

FACULTE de MEDECINE de CAEN

Année 1974

N° 156

THESE

pour le

DOCTORAT en MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

RUBEOLE

et Risque Rubéolique au Cours de la Grossesse
Connaissances Actuelles

par

M. Pierre RABIER

Né le 7 Janvier 1944 à ALGER

Présentée et Soutenue Publiquement le 30. MAI 1974....

Président: M. le Professeur, G. LEVY.

A.C.E.M.C. Editeur.

FACULTE de MEDECINE de CAEN

Année 1974

N°

THESE

pour le

DOCTORAT en MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

RUBEOLE

et Risque Rubéolique au Cours de la Grossesse
Connaissances Actuelles

par

M. Pierre RABIER

Né le 7 Janvier 1944 à ALGER

Présentée et Soutenue Publiquement le

Président: M. le Professeur, G. LEVY.

A.C.E.M.C. Editeur.

FACULTE DE MEDECINE DE CAEN

Année 1910

THÈSE

présentée

DOCTORAT en MEDECINE

par

M. RABIER



et RABIER, docteur en Médecine de la Faculté de Médecine de Caen

Connaissances Actuelles

1910

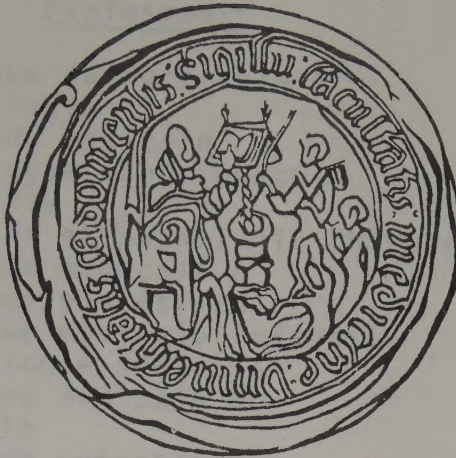
M. Pierre RABIER

M. le 7 Janvier 1911 à Caen

Présente et défend son Thèse

Président, M. le Professeur, G. LEVY

A. G. M. G. M.



Reproduction du sceau original de la Faculté de Médecine de CAEN fondée en 1438

PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM. PROSDORSKY	Biochimie médicale
IZARD	Histologie et Embryologie
MOREL	Bactériologie, Virologie
POILPRE	Psychiatrie
THÉRET	Histologie et Embryologie
VENEZIA	Pédiatrie-généraliste

MAÎTRES DE CONFÉRENCES ADJUTÉS

MM. RAZIA	Thérapeutique, manifestation médicale
BEUVE-MERY	Médecine interne
DEZARD	Chirurgie générale
DAVERNE	Electro-radiologie
Mlle HENTZET	Radiologie
MM. DESCHAMPS	Dermatologie
GAUBERTI	Médecine préventive et santé publique, hygiène
GIGNOUX	Chirurgie générale
LECHEVALIER	Neurologie
LEYMARIE	Biochimie médicale
LOYAU	Rhumatologie
MANDARD	Anatomie pathologique
MOULIN	Pharmacologie
QUESNEL	Anesthésiologie
THOMAS	Immunologie, Hématologie
ABBATUCCI	Radiologie (Maître de Conférences adjoint)

Université de CAEN

FACULTE DE MEDECINE

Professeurs

MM. EVRARD	Clinique chirurgicale A
FABRE	Physiologie
FERNANDEZ	Physique médicale
FOUCAULT	Pathologie expérimentale
GUIHARD	Pédiatrie
LACROIX	Clinique et pathologie chirurgicales B
LEMENAGER	Clinique médicale A
LEVY	Clinique obstétricale
LHIRONDEL	Clinique médicale infantile
MORIN	Séméiologie médicale
OLIVIER	Clinique médicale B
PHELINE	Anatomie
POULAIN	Médecine opératoire
ROUSSELOT	Anatomie pathologique
SAVINI	Pharmacologie
VALLA	Médecine générale et thérapeutique
VILLEY	Clinique médicale C

PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM. DROSDOWSKY	Biochimie médicale
IZARD	Histologie et Embryologie
MOREL	Bactériologie, Virologie
POILPRE	Psychiatrie
THERET	Histologie et Embryologie
VENEZIA	Pédiatrie-génétique

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

MM. BAZIN	Thérapeutique, réanimation médicale
BEUVE-MERY	Médecine interne
BEZARD	Chirurgie générale
DAVERNE	Electro-radiologie
Mlle DENIZET	Radiologie
MM. DESCHAMPS	Dermatologie
GAUBERTI	Médecine préventive et santé publique, Hygiène
GIGNOUX	Chirurgie générale
LECHEVALIER	Neurologie
LEYMARIE	Biochimie médicale
LOYAU	Rhumatologie
MANDARD	Anatomie pathologique
MOULIN	Pharmacologie
QUESNEL	Anesthésiologie
THOMAS	Immunologie, Hématologie
ABBATUCCI	Radiologie (Maître de Conférences associé)

A mes Parents, à Tante.

A mes Amis.

À notre Président de Thèse.

Monsieur le Professeur Gérard LEVY,
Professeur de Clinique Gynécologique et
Obstétricale au Centre Hospitalier et
Universitaire de Caen.

Qui nous a fait le grand honneur d'accepter
la présidence de notre thèse. Nous lui
souhaitons reconnaissance de l'accueil qu'il
nous a réservé et de la bienveillance qu'il
nous a témoignée.

A notre Jury de Thèse,

A notre Président de Thèse

Monsieur le Professeur Gérard LEVY,
Professeur de Clinique Gynécologique et
Obstétricale au Centre Hospitalier et
Universitaire de Caen,

Qui nous a fait le grand honneur d'accepter
la présidence de notre thèse. Nous lui
sommes reconnaissant de l'accueil qu'il
nous a réservé et de la bienveillance qu'il
nous a témoignée.

A Messieurs les Membres de notre Jury de Thèse :

A Monsieur le Professeur C. MOREL

Professeur de Microbiologie à la Faculté de
Médecine de CAEN

qui nous a guidé dans l'élaboration de cette Thèse.
Qu'il en soit respectueusement remercié.

A Monsieur le Professeur G. MULLER

Professeur Agrégé à la Faculté de Médecine de CAEN

qui a bien voulu nous honorer de sa sympathie.
Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de
notre gratitude pour la bienveillante attention
qu'il nous a manifestée.

A Monsieur le Professeur R. VENEZIA

Professeur Agrégé à la Faculté de Médecine de CAEN

En remerciement de l'intérêt qu'il a bien voulu
porter à notre travail.

Au Docteur F. FREYMUTH,

Chef de travaux de Microbiologie à la Faculté
de Médecine de CAEN

qui nous a guidé de ses précieux conseils tout
au long de cette thèse.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de
notre reconnaissance.

- I N T R O D U C T I O N -

L'association d'une maladie infectieuse à la grossesse constitue actuellement une grande préoccupation pour les obstétriciens. Aussi n'est-il peut-être pas inutile d'essayer de résumer ce que l'on sait actuellement sur un sujet particulièrement important par ses conséquences comme l'est la survenue d'une rubéole pendant la grossesse. En outre, au CHU de CAEN est utilisée une méthode de fractionnement des immunoglobulines par gel-filtration sur colonne de SEPHADEX G200 qui est très peu employée en France.

Nous envisagerons successivement :

- Historique
- Diagnostic clinique de la rubéole
- Diagnostic de laboratoire de la rubéole
- Le risque rubéolique : Pathogénie de l'atteinte ovulaire
Immunologie de l'atteinte foetale
La rubéole congénitale
- Les réinfections rubéoliques
- La prévention du risque rubéolique
- Les problèmes posés par l'interruption de la grossesse.

- HISTORIQUE -

On peut distinguer plusieurs périodes dans l'histoire de la rubéole.

Une première période, pendant laquelle la maladie a été reconnue par les auteurs allemands qui l'appellent Rötheln et la séparent des autres fièvres éruptives. L'anglais MATON (1) la décrit en 1815, VEALE (2) en présente 30 cas en 1866 et propose le nom de rubella. Mais le terme de german measles est toujours utilisé dans la littérature anglo-saxonne. Le congrès international de médecine de Londres reconnaît la nouvelle affection en 1881 (W. SQUIRE - 3). Une thèse lyonnaise lui est consacrée (DELESTRE - 1883).

En 1938, HIRO et TASAKA (4) montrent la nature virale de la maladie en la transmettant à des enfants par inoculation de filtrats abactériens de lavages nasopharyngiens provenant de rubéoleux. La rubéole est alors considérée comme une maladie virale bénigne.

Une deuxième période, débute en 1941 lorsqu'un ophtalmologiste australien, Sir Norman MacAllistair GREGG décrit une épidémie de cataractes congénitales, souvent associées à des malformations cardiaques, chez des enfants dont la mère avait contracté la rubéole en début de la grossesse, (5). Ces premières observations sont confirmées par SWAN (6) en 1943. Cependant le scepticisme du monde médical ne disparaît que vers 1947 lorsque WESSELHOEFT (7) publie un article sur la rubéole dans New England Journal Of Medicine collationnant 521 cas de malformations en rapport avec la rubéole. La nature virale de la maladie est confirmée par ANDERSON en 1949 (8) et KRUGMAN en 1953 (9) qui montre l'existence de rubéole cliniquement inapparente. Il apparaît rapidement que le risque foetal est beaucoup plus important lorsque la rubéole survient dans les 3 premiers mois de la grossesse. Mais ce risque est très diversement apprécié.

La troisième période, est virologique. Malgré les méthodes de cultures cellulaires mises au point par ENDERS en 1949, le virus rubéoleux n'est pas reconnu. En effet sur les systèmes cellulaires usuels il ne provoque pas d'effet cytopathogène. En 1962, WELLER et NEVA (10) d'une part, et PARKMAN, BUESCHER et ARTENSEIN (11) d'autre part, isolent le virus rubéoleux, ce qui permet le développement des techniques sérologiques de mise en évidence des anticorps rubéoleux : séroneutralisation, immunofluorescence indirecte, fixation du complément. Malgré leur complexité, ces techniques ont permis d'étudier la grave épidémie qui est survenue en 1964 aux Etats-Unis, et de faire progresser l'étude de la rubéole et de ses conséquences sur le produit de la conception. En 1967, STEWART (12) décrit un test d'inhibition de l'hémagglutination, de réalisation facile, permettant le diagnostic de certitude de la rubéole, son diagnostic rétrospectif et l'appréciation de l'état immunitaire de la population.

Pour la prophylaxie, la première souche virale atténuée apparaît en 1966 : Vaccin HPV 77 (MEYER et PARKMAN - 13). D'autres souches lui succèdent rapidement, BENOIT (HILLEMANN - 14), CENDEHILL (PEETERMANS - 15), RA 27/3 (PLOTKIN - 16).

Ainsi, en l'espace d'une génération, le problème posé par la rubéole a été reconnu (1941) et un certain nombre des questions soulevées ont reçu une réponse (1967).

LA RUBEOLE ACQUISE APRES

LA NAISSANCE

- C L I N I Q U E - -----

La rubéole se présente sous plusieurs aspects cliniques :

- la forme apparente, le plus souvent d'intensité modérée, parfois plus sévère, en particulier chez l'adulte.
- les formes atypiques parce que paucisymptomatiques et sans éruption ou totalement inapparentes.

I - LA RUBEOLE COMMUNE D'INTENSITE MODEREE : (17) -----

Après une période d'incubation silencieuse, qui dure en moyenne de 10 à 14 jours, la période d'invasion est parcourue par l'apparition de l'exanthème en même temps que la température s'élève modérément aux alentours de 38°C. Le malade se plaint d'asthénie, céphalée, parfois de courbatures musculaires.

L'éruption débute au visage, en particulier sur les joues et la région péribuccale, régions où l'éruption gardera son maximum de rougeur. Puis elle s'étend au cou, au thorax, à l'abdomen et atteint les membres, davantage les supérieurs que les inférieurs, respectant les extrémités. Elle est faite de macules rosées, non confluentes, non prurigineuses, clairsemées sur le thorax et l'abdomen, nombreuses et presque confluentes sur le visage, dans la région lombaire et sur les fesses.

L'exanthème est dans cette forme moyenne pratiquement absent.

L'atteinte ganglionnaire est extrêmement fréquente et toutes les chaînes lymphatiques peuvent être intéressées. Cependant, ce sont les ganglions cervicaux postérieurs et surtout sous occipitaux qui sont le plus souvent augmentés de volume, sensibles ou douloureux, sans périadénite. Les adénopathies apparaissent parfois une semaine avant l'éruption.

La guérison survient en quelques jours, l'éruption disparaît en 2-3 jours dans l'ordre dans lequel elle est apparue.

II - LES AUTRES FORMES CLINIQUES : -----

- a) la forme sévère : elle survient surtout chez les adultes.

La température est plus élevée pouvant atteindre 40°C, l'éruption plus floride, plus étendue, avec des macules plus larges, plus rouges, parfois confluentes. Les extrémités peuvent être atteintes. L'énanthème apparaît, la gorge est rouge, les conjonctives injectées. La survenue d'arthralgies est presque la règle au niveau des petites articulations des doigts ; parfois poignets, coudes, genoux sont atteints. L'articulation est douloureuse, tuméfiée. Il est rare de retrouver une arthrite aiguë.

b) les formes paucisymptomatiques et inapparentes : A l'opposé des formes précédentes où le diagnostic clinique peut être fait, ou qui attirent l'attention et font recourir à la sérologie, l'existence de formes qui passent inaperçues est très importante à considérer car ces formes sont également contagieuses et dangereuses pour le fœtus. La rubéole peut se résumer à une température au-dessous de 38°C ou à quelques ganglions indolores qui existent banalement chez de nombreux sujets. Parfois l'examen clinique le plus minutieux ne retrouve aucun signe. Il est habituel de considérer comme rubéole inapparente la rubéole sans éruption.

III - LES COMPLICATIONS : -----

Bien que la rubéole soit dans l'immense majorité des cas une maladie bénigne, certaines complications sont possibles.

a) l'encéphalite : est la seule véritable complication. Elle est très rare, 1/5000, survient surtout chez l'adulte mais des cas ont été rapportés chez l'enfant, (FOURNIER - 18), (BLANCHER -19). Elle débute dans les jours suivants l'éruption, l'électroencéphalogramme est perturbé. La mortalité est de l'ordre de 20 %, plus élevée dans le sexe féminin.

b) les atteintes articulaires : Ce sont en fait plus des symptômes que des complications. Elles sont fréquentes chez les femmes jeunes, rares chez les hommes et les enfants. Elles surviennent après l'éruption et dans la semaine suivante. Les articulations atteintes sont surtout celles des mains, interphalangiennes proximales et métacarpophalangiennes, mais les coudes et les genoux

peuvent être atteints. L'atteinte articulaire va de la gêne douloureuse à l'arthrite ; cette dernière éventualité est rare. Les signes disparaissent en moins de 2 semaines et ne laissent aucune séquelle.

c) le purpura thrombopénique est une complication fréquente chez les enfants. Il apparaît habituellement plusieurs jours ou semaines après l'éruption, accompagné d'une diminution du nombre des plaquettes. Il a été montré que de nombreux purpuras thrombopéniques autrefois considérés comme idiopathiques chez l'enfant sont des complications d'une rubéole inapparente (VERGER - 20).

IV - LE DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL :

Il est difficile cliniquement. L'éruption, les adénopathies font discuter la rougeole, la mononucléose infectieuse, la toxoplasmose dont les signes cutanés sont rares, les éruptions médicamenteuses plus polymorphes avec oedème et prurit. De nombreux virus peuvent se manifester avec la même symptomatologie que la rubéole : Adénovirus, Cocksackie A ou B, Echovirus. Aussi le seul diagnostic de certitude de la rubéole ne peut être apporté que par l'étude sérologique. Ceci a été bien montré par SEVER (21) lorsqu'il a étudié l'épidémie américaine. Si le diagnostic est purement clinique, la sérologie ne montre de séroconversion que dans 74 % des cas. D'autre part des sérums de sujets "rubéoleux" prélevés lors de l'épidémie d'exanthème de Boston en 1954 et réexaminés ultérieurement ont montré qu'il ne s'agissait pas de rubéole mais d'infections à Echovirus type 16.

V - EPIDEMIOLOGIE :

La contagion se fait par voie aérienne directe à partir du virus contenu dans les gouttelettes de Pflüge émises lors des secousses de toux ou de la parole, par un sujet porteur de virus environ 8 jours avant l'éruption et après celle-ci. Il ne semble pas exister de contagion indirecte par l'intermédiaire d'objets souillés car le virus rubéoleux est très fragile et rapidement inactivé dans le milieu extérieur. Lorsque les gouttelettes sont

inhalées par un sujet, le virus pénètre dans certaines cellules de l'oropharynx. Si le sujet est immunisé contre la rubéole à la suite d'une rubéole naturelle ou d'une vaccination antérieures, le virus n'a au maximum qu'une multiplication limitée aux cellules des voies aériennes supérieures. Par contre si le sujet n'est pas immunisé, il va diffuser à partir de cette porte d'entrée par l'intermédiaire des canaux lymphatiques et du sang vers les ganglions lymphatiques où il va se multiplier. Les adénopathies sont souvent le premier signe de la maladie. Pendant la phase de virémie transitoire le virus peut être isolé soit dans le sérum, soit dans les globules blancs et en particulier dans les lymphocytes. Les globules blancs jouent probablement un rôle important dans la diffusion du virus. Puis l'infection se généralise. Lors de l'éruption le virus a été isolé dans de très nombreux organes : ganglions, leucocytes, cul de sac conjonctival, liquide synovial, urine, fécès, col de l'utérus.

Les renseignements apportés par l'étude de la rubéole expérimentale, inoculée à des sujets réceptifs ont permis de préciser le cycle de l'infection. Ce sont surtout les travaux de GREEN R.H. (22), qui a étudié la transmission de la rubéole par inoculation du virus (en intramusculaire ou par spray pharyngé) et par contact, bref ou prolongé. Le virus provenait du sérum d'un sujet rubéoleux prélevé le jour de l'éruption. Il a ainsi montré que :

- les ganglions apparaissent le plus souvent le 8ème jour après le contage, mais parfois du 5ème au 11ème jour.
- l'éruption débute du 12ème au 19ème jour, mais le plus souvent les 13, 14 et 15ème jours après le contage.
- le virus est isolé dans le sang à partir du 7ème jour avant l'éruption, est présent le jour de l'éruption et disparaît le lendemain.
- le virus est retrouvé dans les prélèvements de gorge du 7ème jour avant l'éruption au 14ème jour après l'éruption. Mais d'autres l'y retrouvent aussi tardivement que le 21ème jour (PARKMAN - 23).
- les anticorps neutralisants inférieurs à 1/4 avant l'éruption et le jour de l'éruption, s'élèvent ensuite. Il est rare que le jour de l'éruption, les anticorps neutralisants aient commencé leur ascension.

Plusieurs faits doivent être soulignés :

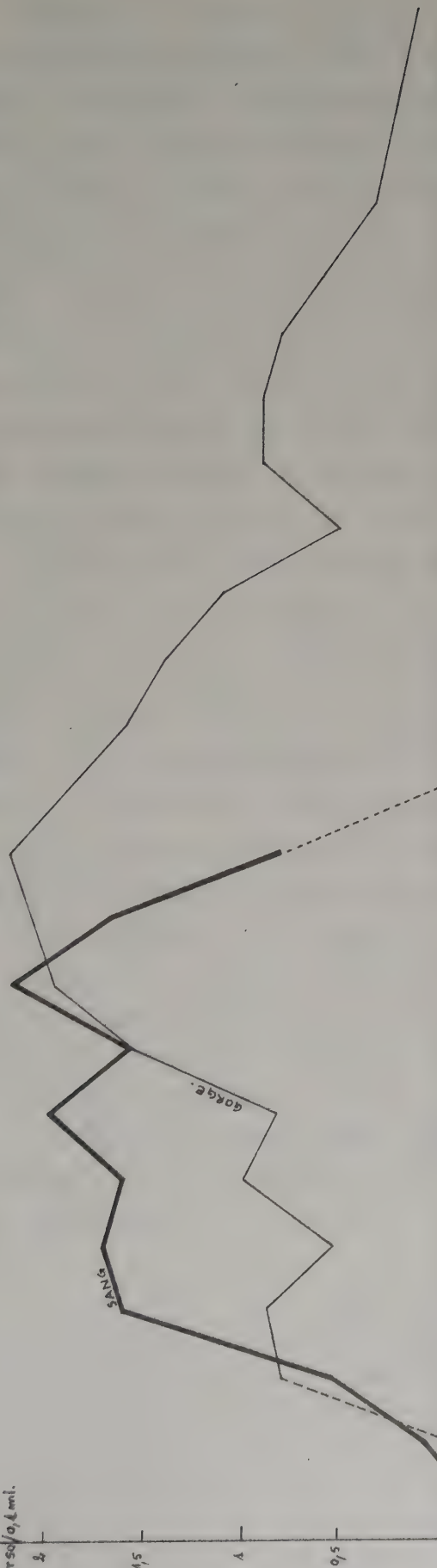
- 1°/ la période pendant laquelle le rubéoleux est contagieux est longue 3 à 4 semaines ; le sujet est contagieux une semaine avant que ne débute l'éruption et 2 à 3 semaines après.
- 2°/ la virémie survient également une semaine avant l'éruption, l'injection de gammaglobulines devrait donc être faite juste avant cette période pour avoir le maximum d'efficacité.

D'après DAVIS, 1971, (134)

CYCLE DE L'INFECTION RUBEOOLIQUE

 DICT 50 = Dose infectieuse à 50 % en culture de tissu.

TITRE
 DU VIRUS
 log₁₀ DICT50/0,1 ml.

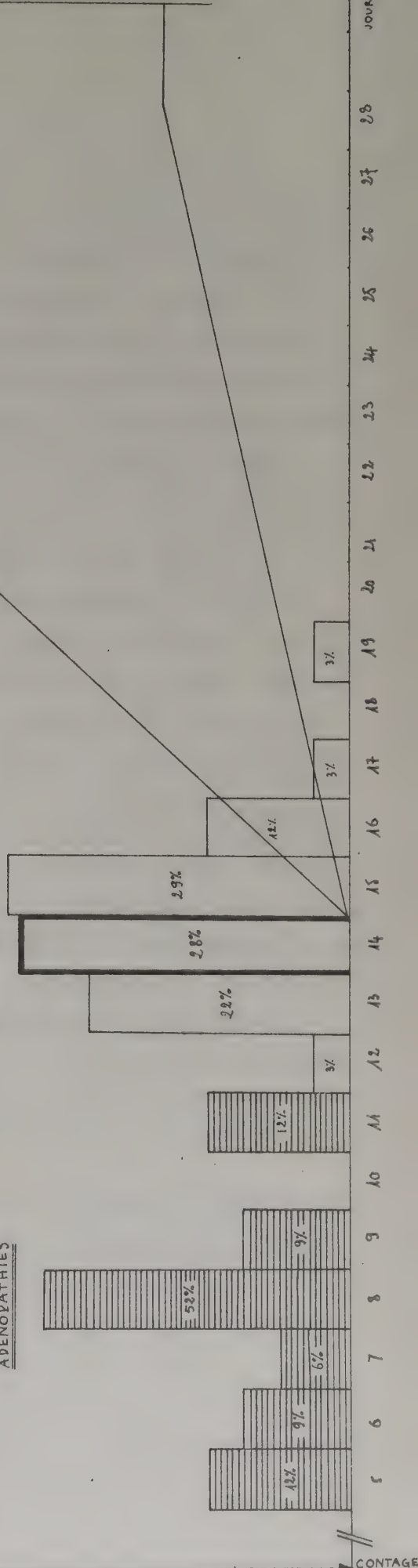


- 10 -

D'après GREEN, 1965, (22)

ADENOPATHIES

ERUPTION



VI - PHYSIOPATHOLOGIE :

Jusqu'à l'apparition de l'éruption, le virus se multiplie dans les cellules sensibles où il entraîne des lésions cellulaires ce qui peut expliquer les adénopathies, la virémie et le portage viral au niveau du nasopharynx. Ensuite l'éruption apparaît, la virémie disparaît tandis que les anticorps antiviraux s'élèvent. La pathogénie de l'éruption de la rubéole est mal connue. Aucune toxine dermique d'origine virale n'a été mise en évidence au niveau de la peau. Il est habituel de considérer cette éruption comme étant d'origine immunologique. Les éruptions survenant au cours des maladies virales généralisées peuvent être dues à la localisation et à la multiplication du virus au niveau de la peau et/ou à un mécanisme immunologique. Alors que dans les éruptions vésiculopustuleuses on peut isoler le virus dont la multiplication dans les cellules cutanées est responsable de l'éruption, on n'avait pas pu isoler le virus rubéoleux dans les macules rosées. En 1971 HEGGIE (24) a retrouvé le virus dans 13 biopsies de macule chez 14 rubéoleux, alors qu'au moment de la biopsie un seul sujet présentait encore une virémie détectable. Le rôle d'une réaction inflammatoire secondaire à la multiplication du virus ne peut être exclu. Pour ce qui est du mécanisme immunologique il est remarquable que l'éruption apparaît lors de l'ascension des anticorps. Il est possible que l'éruption soit due à la formation d'immuns complexes au niveau de la peau. L'apparition de l'éruption correspondrait à un rapport optimal entre les concentrations d'antigène et d'anticorps. Un taux trop faible ou trop élevé d'anticorps entraînerait l'absence d'éruption : l'injection de gamma globulines sans prévenir la maladie, la rend souvent inapparente.

Le rapport entre forme inapparente et forme apparente est très variable. Il va de 6,5/1 à 1/1 selon les épidémies et ce fait n'est pas expliqué.

- LE DIAGNOSTIC DE LABORATOIRE -

Longtemps le seul examen paraclinique pouvant aider au diagnostic a été la numération formule sanguine. Elle montre une plasmocytose, en général modérée 5 à 8 %, atteignant parfois 10 à 15 %. Mais celle-ci est très brève et précoce, aussi passe-t-elle souvent inaperçue. ZECHOVSKY (25) sur 27 cas diagnostiqués par la réaction d'inhibition de l'hémagglutination, 9 fois ne retrouve pas de plasmocytes circulants, 13 fois retrouve une plasmocytose de 1 à 4 %, non significative, et seulement 5 fois une plasmocytose supérieure à 4 %.

En 1962 sont apparues les techniques virologiques d'isolement du virus et sérologiques.

I - ISOLEMENT DU VIRUS :

WELLER et NEVA (10) à la Havard School of Medicine remarquent que l'inoculation des sécrétions nasopharyngées d'enfants rubéoleux à des cultures primaires de cellules amniotiques humaines entraîne un léger effet cytopathogène au bout de 17 à 34 jours. Après une période d'adaptation 90 % des cellules sont lysées en 3 à 5 semaines.

PARKMAN, BUESCHER et ARTENSTEIN (11) au Walter Reed Army Institute of Research montrent qu'une culture primaire de cellules rénales de singe vert (African Green Monkey Kidney = AGMK) inoculée par le virus rubéoleux, ne présente pas l'effet cytopathogène habituel au virus echo 11, lorsque celui-ci est inoculé, 7 à 10 jours après le virus rubéoleux. Le virus rubéoleux inhibe le développement du virus surinfectant : c'est le phénomène d'interférence.

Les 2 virus ont rapidement été reconnus identiques et ces résultats confirmés par VERONELLI, MAASSAB (26), MAC-CARTHY, TAYLOR-ROBINSON (27). Le virus de la rubéole est probablement un ribovirus dont la structure est encore imparfaitement connue.

a) les techniques de prélèvement : Bien que le virus puisse être retrouvé dans le sang, l'urine, les selles, il est plus abondant et plus fréquemment retrouvé dans la gorge et les fosses nasales.

Avec un écouvillon de coton hydrophile sec, stérile, les mucosités nasopharyngées sont prélevées. Ensuite, l'écouvillon est immédiatement plongé dans un tube de milieu de transport, solution de HANKS, contenant outre des antibiotiques, 1 % d'albumine plasmatique bovine. Des lavages de gorge avec la solution saline équilibrée de HANKS peuvent aussi être utilisés. Les prélèvements de sang se font par ponction veineuse et sont héparinés (0,2 mg/ml). Pour ce qui est des prélèvements d'organe, les tissus sont broyés et préparés sous forme de suspension à 10 % dans le milieu de HANKS avec antibiotiques et 1 % d'albumine plasmatique bovine.

Du fait de la fragilité du virus, le prélèvement doit être adressé le plus rapidement possible au laboratoire, entouré de glace ou congelé dans de la carboglace si la durée du transport est supérieure à une demi-journée. La conservation des prélèvements nécessite une température inférieure à - 25°C.

b) l'isolement du virus : Actuellement 2 méthodes d'isolement sont utilisées :

- la technique indirecte d'interférence sur cultures primaires de cellules rénales de singe vert.
- la technique directe de mise en évidence de l'effet cytopathogène sur des lignées cellulaires de singe (VERO), ou de lapin (RK 13, LLC-RK 1, rénales, ou SIRC, cornéennes).

En pratique l'isolement du virus de la rubéole est une technique délicate, très longue, souvent décevante et qui doit être réservée à des recherches spéciales.

II - LE DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE :

A/ LES METHODES UTILISEES :

a) la séroneutralisation en cultures cellulaires : elle fut longtemps la seule méthode utilisable. Le principe de la méthode est simple, son exécution est par contre complexe, longue et délicate. Une suspension de virus rubéoleux est mise en présence de dilutions successives du sérum à examiner puis le mélange est inoculé aux cellules sensibles. Ceci pour rechercher l'effet cytopathogène (séroneutralisation directe, plus rapide) ou mettre en évidence le phénomène d'interférence (séroneutralisation indirecte, plus délicate

mais donnant de meilleurs résultats). Le titre des anticorps neutralisants est donné par la plus haute dilution qui empêche l'effet cytopathogène du virus rubéoleux ou qui laisse apparaître l'effet cytopathogène du virus interférant. Les difficultés de ces techniques sont liées aux nombreux paramètres qui entrent en jeu et à la complexité des techniques de cultures cellulaires du virus rubéoleux. La précision du titrage a été améliorée par une variante de cette méthode, la technique de réduction des plages, RAWLS (28), SCHMIDT (29). De plus l'action neutralisante des anticorps est augmentée lorsque le sérum n'a pas été inactivé ou qu'après chauffage on y a ajouté une dose standard de sérum frais. ALMEIDA (30), en microscopie électronique, a montré qu'en l'absence de complément, le virus agglutiné par l'immunsérum reste intact, alors qu'en sa présence l'enveloppe virale est rapidement détruite.

b) l'immunofluorescence : l'immunofluorescence directe s'étant révélée très difficile, (ESTELA - 31), seule est utilisée l'immunofluorescence indirecte. Elle a été décrite par BROWN et col. (32) en 1964 avec des cellules LLC-MK 2 chroniquement infectées comme source d'antigène puis par SCHAEFFER et col. (33) avec des cellules AGMK. Des dilutions en série du sérum à tester sont déposées sur les cellules infectées ; le complexe antigène-anticorps est mis en évidence par un sérum antiglobuline humaine conjugué à un fluorochrome, l'examen est fait en lumière UV. La technique est simple, mais il faut utiliser des cellules contenant une grande quantité d'antigène et prendre des précautions pour qu'un excès de sensibilité ne nuise pas à la spécificité de la technique. Cette technique est considérée comme aussi sensible que la séroneutralisation par SCHMIDT et LENNETTE (34 - p. 18) et est très utilisée (USA - GB).

c) la réaction de fixation du complément : Pour la rubéole, elle a été décrite par SEVER et HUEBNER (35) en 1965, puis SCHMIDT et LENNETTE en 1966 (36). Elle réalise une méthode classique de fixation à froid. La réaction est simple mais se heurte à la difficulté de préparer de bons antigènes. Ceux-ci sont obtenus par extraction alcaline de la phase cellulaire de cultures de cellules BHK 21.

SCHMIDT et LENNETTE (37) par filtration sur colonne de Séphadex G200 et par ultracentrifugation d'antigènes de titre élevé préparés sur BHK 21 ont montré qu'il existe 2 types d'antigènes fixant le complément :

- l'un "large particle antigen" associé à la particule virale et à l'hémagglutinine, qui équilibre à une densité de 1,19 à 1,21 mg/ml,
- l'autre "antigène soluble" n'ayant aucune activité hémagglutinante ou infectieuse équilibrant à une densité de 1,08 à 1,10 mg/ml.

Ces 2 types d'antigène, séparés sur Séphadex, inoculés au lapin, induisent la formation d'anticorps que l'on ne peut distinguer par la réaction de fixation du complément. Tous deux entraînent la formation d'anticorps neutralisants et inhibant l'hémagglutination.

d) la réaction d'inhibition de l'hémagglutination : C'est sans conteste la réaction la plus importante. Elle a été décrite par STEWART 1967 (12) et a grandement simplifié le diagnostic sérologique de la rubéole. Introduite en France par BOUE 1967 (38), cette réaction s'effectue en 2 temps :

- On met d'abord en présence de dilutions successives du sérum à examiner quatre unités hémagglutinantes du virus. Le mélange est abandonné 2 heures à + 4°C, temps requis pour la fixation des anticorps spécifiques sur les sites antigéniques et hémagglutinants du virus.
- Puis l'on ajoute la suspension d'hématies sensibles (hématies de poussin de un jour, d'oie ou de pigeon adulte) et on laisse l'ensemble 90 minutes à + 4°C, puis 2 heures à la température ordinaire. Dès lors s'il s'agit d'un sérum positif, contenant des anticorps spécifiques, on observe jusqu'à une certaine dilution du sérum indiquant le titre en anticorps, un culot net de sédimentation des hématies. Par contre dans le cas d'un sérum négatif, il existe une hémagglutination des globules rouges pour toutes les dilutions sériques.

La méthode utilisée au CHU de CAEN dérive de la technique décrite par BOUE, NICOLAS et LANG (39). Il convient d'insister sur certains points.

-- le traitement préalable des sérums : Il permet d'éliminer du sérum les hémagglutinines naturelles antihématies de poussin ainsi que les inhibiteurs non spécifiques de l'hémagglutination du virus rubéoleux. Pour ces derniers le traitement est différent selon qu'il s'agit du sérum (méthode classique au kaolin) ou des fractions obtenues par gel filtration (méthode au sulfate de dextran - Cl₂Ca - 40).

Son efficacité doit être contrôlée lors de la réaction. Deux témoins seront utilisés : un témoin sérum pour le contrôle de l'élimination des hémagglutinines naturelles et un témoin virus Sindbis pour celui de l'élimination des inhibiteurs non spécifiques de l'hémagglutination. Ce dernier permet de déceler une réponse faussement positive; il s'agit toujours de réactions faiblement positives. Ces fausses réactions positives ne sont pas exceptionnelles. Le témoin Sindbis est absolument indispensable pour les réactions d'inhibition de l'hémagglutination effectuées sur les fractions obtenues par gel filtration. Du fait de l'élution simultanée des immunoglobulines M et des inhibiteurs non spécifiques de l'hémagglutination, de graves erreurs par excès peuvent être commises s'il n'est pas utilisé.

-- la réaction d'inhibition de l'hémagglutination est effectuée par une microméthode (système microtiter) sous un volume de base des réactifs de 0,025 ml. Le tampon utilisé est le tampon boraté pH 9 et le tampon à pH 6,2 pour les suspensions globulaires. Les antigènes Hémagglutinine rubéolique ⁺ et virus Sindbis ⁺⁺ doivent être titrés avant chaque réaction. Il existe en effet, de temps en temps, des variations importantes du titre hémagglutinant des préparations commercialisées. Quatre unités hémagglutinantes sont utilisées sous un volume de 0,025 ml. Le contrôle des quatre unités doit impérativement être associé à la réaction. Il permet d'assurer la précision et la reproductibilité des résultats. Selon le laboratoire d'importantes variations du titre des anticorps sont observées. Cette méthode demeure une technique élaborée de sérologie virale. L'importance que l'on attache à ses résultats justifierait une standardisation de la méthode.

+ Lab. MERIEUX

++ Institut Pasteur

e) autres réactions sérologiques : d'autres anticorps ont pu être mis en évidence.

- . Anticorps provoquant une aggrégation plaquettaire, VAHERI et col. (41). Ils sont particulièrement élevés chez les sujets présentant un purpura.
- . Un test d'inhibition de l'hémadsorbition a été décrit mais ne présente aucun avantage sur l'inhibition de l'hémagglutination et n'est pas utilisé (42)
- . Par immunodiffusion LEBOUVIER (43), HALONEN (44) ont montré l'existence dans le milieu de culture de cellules infectées de précipitinogènes. Celles-ci entraînent l'apparition dans le sérum après infection rubéolique d'anticorps : les précipitines anti-iota et anti-théta, dont HORSTMANN a montré l'intérêt (45) et que nous reverrons.

B/ EVOLUTION DES DIFFERENTS ANTICORPS :

a) les anticorps neutralisants apparaissent dans les 2 à 3 jours qui suivent le début de l'éruption. Il est rare qu'ils soient élevés le premier jour de l'éruption. Le titre maximum est atteint en 1 mois. Ils persistent de nombreuses années. Ces anticorps apparaissent également après vaccination.

b) les anticorps fluorescents apparaissent légèrement plus tard que les précédents, mais augmentent plus rapidement. Le maximum est atteint vers 2 à 3 semaines après l'éruption. Leurs persistance est discutée, pour certains au delà de 10 ans la réaction colorée est faible SEVER (46), pour d'autres DIEBEL (47), les anticorps fluorescents peuvent persister aussi longtemps que les anticorps neutralisants et inhibant l'hémagglutination.

c) les anticorps fixant le complément : Ce test peut être utilisé couplé avec la réaction d'inhibition de l'hémagglutination. Les anticorps apparaissent plusieurs jours après le début de l'éruption, vers le 5ème jour, mais parfois très tardivement (jusqu'à un mois). L'augmentation du titre se fait plus lentement que pour les anticorps inhibant l'hémagglutination. Le maximum est atteint

vers le 20ème jour, parfois plus tard. Ces anticorps ne persistent pas toute la vie, le taux sérique décroît souvent au bout de 4 à 6 mois. Après vaccination par HPV 77, MEYER (48) les retrouve rarement ; Avec la souche CENDEHILL, HORSTMANN (45) les retrouve dans 40 % des cas (6/15).

d) les précipitines anti-thêta et anti-iota présentent des particularités intéressantes. Les précipitines anti-thêta apparaissent précocement juste après les anticorps inhibant l'hémagglutination. Elles augmentent plus rapidement que les précipitines anti-iota dont l'apparition est retardée d'une semaine. Le titre des précipitines anti-theta est plus élevé. Au bout de 5 ans les précipitines anti-iota ont complètement disparu, alors que les précipitines anti-theta persistent. Une autre particularité importante est, qu'après vaccination, seules les précipitines anti-theta s'élèvent. Nous reverrons cette question lorsque nous envisagerons les réinfections.

e) les anticorps inhibant l'hémagglutination : Ils apparaissent avec l'éruption et leur ascension s'effectue rapidement en 8 à 10 jours pour atteindre un titre le plus souvent élevé supérieur ou égal à 1/640. Il arrive cependant que le titre du 2ème sérum soit plus faible (1/160 par exemple). ceci étant lié d'une part à la sensibilité de la méthode utilisée et d'autre part aux capacités immunitaires de chaque individu qui varient d'un sujet à l'autre. Ce qui est important à considérer c'est l'existence d'une séroconversion (apparition des anticorps) ou une augmentation significative du titre, multiplication par 4 ou plus. Au bout de 4 à 5 semaines le titre diminue légèrement puis persiste à des taux variables pendant de nombreuses années.

C/ COMPARAISON DES QUATRE PRINCIPAUX TESTS :

Elle a été faite par SCHMIDT et LENNETTE (34 - p. 18), qui ont utilisé les 4 méthodes chez 99 sujets suspects de rubéole. Le 1er sérum était prélevé pendant la semaine suivant l'éruption, le deuxième après le 14ème jour suivant l'éruption.

Méthode	Augmentation significa- tive du titre	AC présents sans augmentation significative du titre	Pas d'AC	TOTAL
Séroneutralisation	33	51	15(<1/4)	99
Fix. du Complément	48	26	25(<1/4)	99
Immunofluorescence	51	30	18(<1/4)	99
Inhib. de l'hémaggl.	51	30	18(<1/8)	99

D'après SCHMIDT et LENNETTE (34, p.18)

Interprétation :

Ces 99 sujets peuvent être groupés en 5 catégories :

- . Ceux qui de séronégatifs sont devenus séropositifs (séroconversion)
- . Ceux qui ont présenté une augmentation significative du titre de leurs anticorps, 4 dilutions ou plus. Ces deux catégories correspondent à la première colonne.
- . Ceux qui ont des anticorps à un niveau constant traduisant une immunité ancienne.
- . Ceux qui ont des anticorps à un niveau constant traduisant une primo infection rubéoleuse, les anticorps ayant déjà atteint leur maximum lorsque le premier sérum a été prélevé. Ces deux catégories correspondent à la deuxième colonne.
- . Ceux qui étaient séronégatifs et le sont restés, dernière colonne.
- La séroneutralisation est la méthode la plus sensible. Mais c'est elle qui met le moins ^{souvent} en évidence une augmentation significative du titre, ce qui montre que lorsque le premier prélèvement est fait pendant la première semaine les anticorps neutralisants peuvent déjà avoir atteint leur maximum.
- La réaction de fixation du complément met plus souvent en évidence l'augmentation significative du titre, mais il est fréquent que le sérum prélevé après le 14ème jour suivant l'éruption ne contienne pas encore d'anticorps.

- l'immunofluorescence et l'inhibition de l'hémagglutination donnent des résultats identiques : Ce sont elles qui mettent en évidence le plus souvent l'augmentation significative du titre. Par contre 3 sujets considérés comme séronégatifs en inhibition de l'hémagglutination ont des anticorps neutralisants.

La discordance qui existe entre, d'une part, la séroneutralisation, d'autre part l'inhibition de l'hémagglutination et l'immunofluorescence (première colonne) alors que ces différents anticorps ont à peu près la même cinétique pourrait être expliquée de la manière suivante. Le traitement du sérum par le kaolin pour éliminer les inhibiteurs non spécifiques de l'hémagglutination fait disparaître une partie des IgM du sérum. Cette disparition est plus marquée pour le premier sérum dans lequel les anticorps de la fraction IgM sont abondants, que dans le deuxième sérum, où ils le sont moins. Pour l'immunofluorescence, la différence est peut-être due au fait que l'antiglobuline humaine contient plus d'anticorps anti IgG que d'anticorps anti IgM.

D/ INTERPRETATION DE LA SEROLOGIE DE LA RUBEOLE

Elle est habituellement utilisée dans trois circonstances

- Recherche de l'état immunitaire d'un sujet ou d'une population
- Diagnostic de la rubéole acquise après la naissance
- Diagnostic de la rubéole congénitale chez un nouveau-né.

- 1 - Recherche de l'état immunitaire : L'appréciation de l'état immunitaire d'un sujet a été grandement facilitée par la mise au point de la réaction d'inhibition de l'hémagglutination par STEWART. Un seul prélèvement de sang est suffisant. Lorsque le taux des anticorps inhibant l'hémagglutination est
 - $< 1/10$, c'est que le sujet n'a probablement jamais été en contact avec le virus rubéoleux, donc qu'il n'est pas immunisé,
 - $\geq 1/40$, il existe une immunité acquise, soit naturellement, soit par vaccination, qui le met à l'abri d'une nouvelle infection rubéolique généralisée.
 - $1/10$ ou $1/20$, l'interprétation est plus délicate. On se trouve en effet à la limite inférieure de sensibilité de la méthode et dans la zone où les inhibiteurs non spécifiques de l'hémag-

glutination peuvent fausser les résultats. Cependant, si le même taux persiste lors d'une réaction de contrôle, le sujet est probablement protégé, car immunisé. Les anticorps circulants ne reflètent aucunement l'immunité cellulaire dont on sait l'importance.

Des études sur une large échelle ont permis de montrer, qu'en France, le pourcentage des femmes en âge de procréer et non immunisées, donc susceptibles de contracter la rubéole est de 5 à 10 %.

PARIS 8 % (BOUE), (PEROL, CHRISTOL) ; 10 % (JAMI) ; 11 % (CANIVET).

NORD 6 % (TONNEL)

MARSEILLE 11,6 % (TAMALET)

MONTPELLIER 7 % (SERRE)

LYON 4,8 % (MONNET)

ALSACE 6 % (WURTZ, cités par P. MONNET 1971 (49).

CAEN 13 % de 16 à 20 ans

8 % au-delà de 20 ans (50)

Dans d'autres pays la situation est beaucoup moins favorable. Chez les femmes de 18 à 35 ans, en âge de procréer, le pourcentage de sérosusceptibilité atteint parfois des chiffres très élevés.

PUERTO RICO 56 %

COSTA RICA 25 %

FLORIDE 31 % (34 - p. 115)

HAWAII 42 % (des femmes enceintes) (51).

Le niveau immunitaire est naturellement fonction de l'âge, la proportion de sujets immunisés augmentant avec l'âge :

GROUPE D'AGE	0-3	3-5	6-10	11-15	16-19	20-24	25-29	30-50
% de sérums positifs ZECHOVSKY (25)	19,5%	55%	56 %	88%	85,7%	90,7%	92,7%	95,3%
FREYMUTH (50)			55 %		87 %	91 %	93 %	

Il est intéressant de remarquer que lorsque la sérologie de la rubéole est couplée avec celle de la rougeole, il apparaît que le pourcentage d'immunisation contre la rougeole est toujours supérieur à celui de la rubéole. La rougeole survient le plus souvent avant l'âge de 10 ans alors que la rubéole peut être contractée beaucoup plus tardivement, (52), (53).

2 - le diagnostic d'une infection rubéolique chez la femme enceinte : -----

L'interprétation de la sérologie est identique que la femme soit enceinte ou non. Cependant lors de la grossesse, elle doit être particulièrement rigoureuse, car l'attitude du médecin sera basée, presque exclusivement, sur ses résultats.

D'une manière générale on peut dire qu'il y a 3 types de situation dans lesquelles l'aide du laboratoire est indispensable :

- Une femme enceinte consulte parce qu'elle a été en contact avec un sujet suspect de rubéole.
- Une femme enceinte consulte parce qu'elle présente une éruption.
- Lorsqu'il est nécessaire de faire le diagnostic d'une éruption ou d'une rubéole survenues un certain temps auparavant, et qui pour des raisons variées, n'avaient pas fait l'objet de recherches sérologiques.

Dans tous les cas, il est impératif que le premier prélèvement de sang soit fait immédiatement, c'est-à-dire lorsque le médecin voit la femme pour la première fois. Un prélèvement tardif ne doit être que le résultat d'une consultation tardive ou de circonstances particulières, mais le médecin ne doit jamais différer le prélèvement. L'interprétation n'a de valeur que si les circonstances cliniques sont bien précisées : date du début de l'éruption ou du contact avec le sujet suspect de rubéole, type de contact (bref ou prolongé et durée), résumé des signes cliniques, date des dernières règles normales. En outre, il sera précisé si la femme a reçu des gamma globulines.

1er cas : Une femme enceinte consulte parce qu'elle a été en contact avec un sujet suspect de rubéole.

a) dans cette circonstance, deux éventualités doivent être distinguées

- il peut s'agir d'un contact bref, unique ou répété, en dehors du foyer, avec un enfant présentant une éruption ou, plus souvent, avec un enfant en période prééruptive. C'est lorsque la femme apprend la sortie de l'éruption qu'elle s'inquiète et consulte.

- le deuxième type de contact est beaucoup plus fréquent. C'est le cas de la mère de famille en contact permanent et intime avec son enfant qui est contaminé par le virus rubéoleux à l'école. C'est celui aussi de l'institutrice ou des infirmières qui sont en contact permanent avec de jeunes enfants.

b) Interprétation des résultats du premier prélèvement, pratiqué après le contact ou lorsque la femme est avertie de l'éruption du sujet contamineur :

1 - des anticorps sont présents : cette constatation est de bon pronostic. La possession d'anticorps, même à titre faible, montre que la femme est déjà immunisée contre la rubéole et qu'il n'y a pas de risque pour le fœtus. Certes, une réinfection infra-clinique est possible, mais il semble qu'elle n'est pas dangereuse pour le fœtus (cf. infra). La femme pourra donc être rassurée dès les résultats du premier sérum. L'examen d'un deuxième sérum est facultatif, mais souhaitable pour éviter tout risque d'erreur.

2 - Il n'y a pas d'anticorps : le prélèvement d'un deuxième sérum devient indispensable.

- Si le contact a été unique et bref, le deuxième sérum sera prélevé 21 jours après le contact.

- S'il y a eu plusieurs contacts, 21 jours après le dernier contact.

- Si le contact a été permanent et prolongé, et le premier sérum prélevé chez la femme lors de l'éruption du sujet contamineur, le prélèvement du second sérum peut être rapproché : 12 jours environ après l'éruption du sujet contamineur. L'explication en est simple. Lors du prélèvement du premier sérum la femme est en période d'incubation depuis environ une semaine et les anticorps commenceront à augmenter le 14-15ème jour d'incubation.

c) interprétation des résultats du deuxième prélèvement :

- Il n'apparaît pas d'anticorps : la femme n'a pas fait la rubéole. Cette conclusion implique que la rubéole entraîne toujours une réponse immunologique avec un taux d'anticorps inhibant l'hémagglutination au moins égal à 1/10.

Jusqu'ici aucune exception à cette règle n'a été rapportée.

- Des anticorps sont apparus : la séroconversion montre que la femme a fait une rubéole.

d) La sérologie du sujet contamineur sera pratiquée. Le premier sérum est prélevé le jour de l'éruption, le second 14 jours plus tard, et l'existence ou l'absence de séroconversion affirme ou infirme le diagnostic de la rubéole.

e) Dans les éventualités que nous avons vues, le problème de l'interprétation de la sérologie est relativement simple lorsque l'on connaît le cycle de l'infection rubéolique. Mais l'existence de formes apparentes ou inapparentes, chez le contamineur et/ou le contaminé peut rendre l'interprétation très difficile. Par exemple : La femme fait une forme inapparente et contamine son enfant qui fait une rubéole éruptive : la sérologie pratiquée chez la mère à ce moment va montrer la présence d'anticorps et ceux-ci seront considérés, à tort, comme le témoin d'une immunité ancienne.

2ème cas : Une femme enceinte consulte parce qu'elle présente une éruption

Le prélèvement de deux sérums à 14 jours d'intervalle est dans tous les cas indispensable. C'est l'évolution du titre des anticorps qui permettra le diagnostic.

-- le premier sérum est prélevé le jour de l'éruption.

- . Si les anticorps sont absents : la femme n'est pas immunisée contre la rubéole.
- . Si des anticorps sont présents : ceux-ci peuvent être le reflet d'une immunité ancienne mais aussi le reflet d'une ascension précoce des anticorps lors d'une primo infection rubéolique.

-- le deuxième sérum est prélevé 14 jours après l'éruption.

- . S'il n'y a toujours pas d'anticorps, l'éruption n'est pas due à la rubéole.
- . Si des anticorps sont présents, l'évolution du titre doit être considérée. Un taux qui reste stable aux 2 prélèvements successifs est le témoin d'une immunité ancienne. Par contre une augmentation significative du titre des anticorps (= 4 dilutions ou plus) permet le diagnostic de rubéole.

3ème cas : celui du diagnostic rétrospectif de la rubéole.

C'est assurément ce dernier cas qui est le plus difficile à résoudre. Le problème se pose dans deux circonstances :

- Lorsque le premier sérum a été prélevé tardivement après l'éruption: un sérum prélevé le 8ème jour peut être considéré comme tardif.
- Lorsqu'il s'agit d'une femme dont les cycles sont irréguliers qui présente une éruption mais ne s'en inquiète pas, parce qu'elle ignore qu'elle est enceinte. Ce n'est que lorsque la grossesse est reconnue qu'elle consulte son médecin, souvent 5 à 6 semaines après l'éruption.

a) le cas du prélèvement tardif

- le premier sérum et le deuxième prélevé 7 jours plus tard ne contiennent pas d'anticorps : il ne s'agissait pas de rubéole.
- le deuxième sérum objective une augmentation significative du titre des anticorps inhibant l'hémagglutination : il s'agissait d'une rubéole. Cette éventualité est très rare pour ne pas dire inexistant.

- le plus souvent on retrouve des anticorps à un taux constant dans les 2 sérums. Ce taux peut être faible ou élevé.

Un taux constant faible (inférieur à 1/160) est le témoin d'une immunité ancienne. Un taux constant élevé ne permet aucune conclusion. Il faudra alors avoir recours à la réaction de fixation du complément qui pourra mettre en évidence une augmentation significative du titre, car nous avons vu que les anticorps fixant le complément sont d'apparition tardive. Mais si le titre de ces anticorps est élevé dans les deux prélèvements, le seul recours restera le fractionnement des immunoglobulines.

b) En cas de grossesse méconnue

Le problème est à peu près identique si ce n'est que le premier prélèvement de sang est beaucoup plus tardif que dans le cas précédent. Et mis à part le cas où la femme est séronégative, la sérologie est ininterprétable. Seul le fractionnement des immunoglobulines pourra permettre un diagnostic lorsqu'il sera pratiqué dans les 2 mois suivant l'éruption. Au delà il n'y a aucun moyen de faire le diagnostic avant la naissance de l'enfant.

La sérologie du contamineur sera pratiquée, si cela est possible et n'aura de valeur que si le sujet est dépourvu d'anticorps, ce qui élimine le diagnostic de rubéole.

3 - Le diagnostic de la rubéole congénitale sera envisagé ultérieurement.

E/ LE FRACTIONNEMENT DES IMMUNOGLOBULINES :

Ce sont BAUER et STAVITSKY en 1961 (cité par SVEHAG - 54) qui ont montré que l'injection d'un antigène viral (bactériophage T2) entraîne la formation de deux types d'anticorps : d'abord des anticorps de la fraction IgM, puis des anticorps de la fraction IgG. SCHLUEDERBERG (55) en 1965 en utilisant le 2-mercaptoéthanol a montré l'intérêt de la recherche des anticorps de la fraction IgM pour différencier une infection récente d'une infection ancienne, ou une réponse immunologique primaire d'une secondaire, dans le cas de la rougeole, des oreillons et des infections à coxsackie. BELLANTI (56) et ALFORD (57) ont utilisé ces méthodes pour la rubéole en 1965.

A l'heure actuelle l'intérêt du fractionnement des immunoglobulines est grand dans certaines circonstances :

- Pour différencier une immunité ancienne d'une rubéole récente, lorsque la sérologie ne donne pas de résultat probant, parce que le prélèvement a été fait tardivement.
- Pour différencier une primo-infection d'une réinfection.
- Lorsqu'il est nécessaire de faire un diagnostic rapide de la rubéole, le fractionnement peut être pratiqué d'emblée sur le premier sérum. En effet, si une interruption de grossesse est envisagée, il est préférable que celle-ci ait lieu avant la 12ème semaine, les risques de l'interruption étant plus importants ensuite. En cas de rubéole survenant vers la 12ème semaine, la nécessité d'attendre 2 semaines les résultats du 2ème prélèvement, va rendre plus complexe l'interruption de la grossesse.

1 - Les techniques de fractionnement :

Elles sont nombreuses, de valeur différente, et la plupart réclame une haute technicité ou un appareillage coûteux. Aussi

ne sont-elles pas pratiquées dans tous les laboratoires. Elles peuvent être divisées en 2 groupes :

- Celles qui mettent en évidence les anticorps rubéoleux dans les différentes fractions des immunoglobulines, sur le sérum total :
 - . Utilisation des agents réducteurs, surtout le 2-MERCAPTOETHANOL, ALFORD 1965 (57), BANATVALA et BEST (58), BEST, BANATVALA et WATSON 1969 (59) COOPER 1969.
 - . L'immunofluorescence indirecte, très utilisée, BAUBLIS et BROWN 1968 (60), COHEN 1968 (61), HAIRE et HADDEN 1970 (62), CRADOCK-WATSON 1972 (63).
- Celles qui séparent d'abord les différentes fractions des immunoglobulines et recherchent ensuite les anticorps rubéoleux dans ces fractions
 - . Ultracentrifugation dans un gradient de saccharose, VESIKARI et VAHERI 1968 (64), ALFORD, BELLANTI, 1965, BOUE 1971 (65), MAURIN 1973 (66).
 - . L'ultracentrifugation suivie de radioimmunodiffusion et autoradiographie, OGRA 1971 (67).
 - . La gel-infiltration sur SEPHADEX G200, BELLANTI 1965, ALFORD 1965, GUPTA 1971 (68). C'est la technique utilisée au CHU de CAEN (40), (69), (70).
 - . La gel-filtration sur AGAROSE a été utilisée par BÜRGIN-WOLFF 1971 (71).

a) les agents réducteurs : le 2-mercaptoéthanol. C'est un réducteur des ponts disulfures qui isole les subunités de la molécule d'IgM. La technique consiste à titrer les anticorps inhibant l'hémagglutination dans le sérum total avant et après action du 2-mercaptoéthanol. Si les anticorps sont dans la fraction IgG, il n'y a pas de variation du titre. Par contre si une partie des anticorps est dans la fraction IgM, le titre du sérum après traitement par le 2-mercaptoéthanol est plus bas. Cette technique qui présente l'avantage de la simplicité, a cependant de gros inconvénients. Le 2-mercaptoéthanol est de conservation brève au laboratoire, et surtout les résultats sont irréguliers et peu reproductibles. Pour que le résultat soit interprétable, il faut qu'après action du réducteur, apparaisse une

diminution significative du titre des anticorps. Dans ce cas, cela signifie que ce sont les anticorps de la fraction IgM qui ont disparu. Sur 13 sérums précoces, BEST et BANATVALA 1969 (59) retrouvent 12 fois une diminution du titre, mais cette diminution n'est significative que 8 fois (61 %), et dans ce cas il s'agit presque toujours (6 fois sur 8) de sérums dans lesquels le taux des IgM est très élevé (supérieur à 1,58 mg/ml). Or, un tel taux d'IgM n'est pas fréquent dans les sérums très précoces ou très tardifs.

b) l'immunofluorescence indirecte : Le principe de la méthode consiste à mettre en évidence la nature (IgG, IgM, IgA) des anticorps du sérum total grâce à une antiglobuline humaine anti-IgG, anti-IgM ou anti-IgA marquée à la fluorescéine. Le support antigénique est constitué par des lamelles de verre sur lesquelles ont été cultivées des cellules (BHK 21 - HAIRE et HADDEN, BHK 21 et LLC -MK 2 - CRADOCK-WATSON, RK 13 - DROPSY72) qui sont infectées par le virus rubéoleux. Elles sont ensuite fixées par l'acétone à froid et montées sur des lames de verres à l'aide d'un film de paraffine. Ceci permet leur conservation (à - 20°C) jusqu'au moment de leur utilisation. Les anticorps rubéoleux sont contenus dans le sérum à tester dont on pratique des dilutions successives. Le sérum antiglobuline est un sérum de chèvre ou de mouton anti-IgG ou anti-IgM ou anti-IgA marqué à l'isothiocyanate de fluoresceine.

Les cellules infectées sont mises en présence des dilutions successives du sérum puis avec les différents sérums antiglobulines. L'examen des lames se fait au microscope à fond noir en lumière ultraviolet.

Lorsque la réaction est positive, les anticorps de la fraction IgG entraînent l'apparition de larges granules cytoplasmiques et une coloration du pourtour de la cellule. Les anticorps de la fraction IgM entraînent une coloration granuleuse du cytoplasme qui est plus diffuse. Les témoins ne présentent aucune fluorescence. Cette technique est très utilisée car de réalisation relativement simple. Cependant de nombreuses précautions doivent être prises. Une augmentation de la sensibilité peut entraîner une diminution de la spécificité. Les fluorescences non spécifiques peuvent être éliminées en ajoutant des

traces de rhodamine (DROPSY) ou par adsorption du sérum à tester et du sérum antiglobuline sur des cellules BHK 21 (CRADOCK-WATSON).

Plusieurs témoins sont nécessaires :

- cellules infectées + sérum négatif
- cellules infectées + tampon PBS (témoin antiglobuline)
- cellules non infectées + sérum à tester.

c) l'ultracentrifugation dans un gradient de saccharose :

C'est une méthode très précise, mais qui réclame un équipement important du laboratoire. Le sérum à examiner (0,2 ml) est déposé à la surface d'un gradient de densité préformé en saccharose, 40 - 10% poids/volume. Le gradient est centrifugé à 40 000 tours/minute (159 000 g) pendant 22 heures à 4°C. 21 ou 22 fractions de 3 gouttes sont collectées et chacune d'elle testée pour la recherche des anticorps inhibant l'hémagglutination (Technique Institut Pasteur). Des modifications de cette technique sont possibles, en particulier recueil de 13 fractions de 6 gouttes qui permet une interprétation plus facile, MAURIN 1973 (66). Les IgM, de poids moléculaire de 950 000 et de constante de sédimentation 19S sont situées dans les premières fractions recueillies. Les IgG de poids moléculaire plus faible 150 000 et de constante de sédimentation de 7S viennent ensuite. Un avantage de cette méthode est de séparer les inhibiteurs non spécifiques de l'hémagglutination qui sont des bétalipoprotéines et qui plus légères sont retrouvées dans les dernières fractions. Un autre avantage est de permettre de traiter plusieurs sérums en une seule centrifugation. Par contre les IgA ne sont pas séparées, elles sont recueillies avec les IgG.

DESMYTER 1971 (73), a proposé de recueillir 6 fractions et de tester seulement la fraction 2 qui ne contient que des IgM, et la fraction 4 qui ne contient que des IgG.

d) la gel-filtration est une technique très intéressante qui présente de nombreux avantages. Elle peut être réalisée sur colonne de SEPHADEX G200 ou d'AGAROSE.

-- La filtration du sérum sur SEPHADEX G 200 permet de séparer les protéines sériques en fonction de leur taille et de leur poids moléculaire : les grosses molécules sont rapidement exclues du gel (IgM et lipoprotéines) tandis que les autres (IgG et albumines) sont retenues en raison inverse de leur poids moléculaire. Après le dépôt de 1,1 ml du sérum à tester à la surface du gel, des fractions de 2 ml sont recueillies toutes les 20 minutes. Les concentrations en protéines des fractions sont évaluées par adsorption spectrophotométrique à 280 nm. On recueille ainsi les premières fractions contenant notamment les immunoglobulines IgM. Puis d'autres fractions contenant des immunoglobulines IgG (2ème pic). Le troisième correspond aux albumines. Il suffit ensuite de rechercher les anticorps rubéoleux inhibant l'hémagglutination dans ces différentes fractions. Les inhibiteurs non spécifiques de l'hémagglutination peuvent être éliminés soit sur le sérum total avant gel filtration soit dans les fractions. Sur les fractions le sulfate de dextran est préférable car le kaolin fait disparaître une partie des IgM.

-- La filtration sur AGAROSE a été utilisée par BÜRGIN-WOLFF. Le fractionnement se fait sur BIOGEL A5-m, 200-400 mesh. La technique est très proche de la précédente mais présente l'avantage d'individualiser les IgA. Celles-ci ont un poids moléculaire plus proche des IgG que des IgM et une constante de sédimentation qui va de 7S à 11S. Elles sont recueillies dans la fraction des IgG, aussi bien par ultracentrifugation que par filtration sur colonne SEPHADEX G200. L'individualisation des IgA est une particularité très intéressante de cette technique. En effet, après traitement par le kaolin, le dosage des immunoglobulines par immunodiffusion radiale a montré à BÜRGIN-WOLFF qu'on retrouve 32 à 62 % des IgM, 73 à 76 % des IgG, et 100 % des IgA. Or comme pour de nombreux auteurs, l'évolution des anticorps des fractions IgM et IgA est identique, leur recherche dans la fraction IgA apparaît comme plus fiable.

2 - Interprétation des résultats :

Toutes ces méthodes ont permis d'apprécier la cinétique des anticorps rubéoleux inhibant l'hémagglutination dans les différentes fractions.

a) dans la fraction IgM :

- . De nombreux auteurs considèrent que les anticorps de cette fraction persistent seulement pendant les 20 à 30 jours qui suivent l'éruption et MAURIN (Institut Pasteur) ne les retrouve pas après un mois par ultracentrifugation.
D'autres par contre estiment leur persistance plus longue.
- . Par immunofluorescence indirecte, HAIRE et HADDEN les mettent en évidence jusqu'à 7 semaines, à des titres faibles.
- . Par gel-filtration sur AGAROSE, BÜRGIN-WOLFF arrive à la même conclusion à la suite d'une importante étude portant sur 66 sujets, puisque des anticorps de la fraction IgM sont retrouvés entre 6 et 11 semaines après l'éruption.
- . L'expérience acquise au CHU de Caen par le fractionnement sur SEPHADEX G 200 de nombreux sérums permet d'estimer leur persistance à 6 à 8 semaines après l'éruption.
- . Avec la méthode très sensible de OGRA, les résultats sont identiques.

Signification : Lors de la primo-infection rubéolique les premiers anticorps qui apparaissent sont des IgM, ensuite viennent les IgG qui ne tardent pas à se substituer aux premières. Ainsi la mise en évidence d'anticorps inhibant l'hémagglutination dans la fraction IgM est considérée comme étant le témoin d'une primo-infection rubéolique récente.

Ces notions cependant, ne sont pas établies formellement et méritent d'être discutées.

- Il n'est pas encore certain qu'une rubéole de primo-infection entraîne toujours l'apparition d'anticorps dans la fraction IgM, MAURIN 1973 (66).
- Il n'est pas certain qu'en cas de réinfection n'apparaissent pas des anticorps de la fraction IgM. Ce problème sera revu ultérieurement.
- Il a été montré dans quelques cas que les anticorps de la fraction IgM pouvaient persister très longtemps, dans des circonstances particulières. HAIRE et HADDEN 1970 (62), dans trois cas de rubéole compliquée (d'un purpura thrombopénique, 2 fois, et d'un syndrome du canal carpien, 1 fois) retrouvent des anticorps de la fraction IgM entre 30 et 38 semaines après l'éruption. BAUBLIS et

et BROWN retrouvent des anticorps dans la fraction IgM dans les 8 jours qui suivent l'accouchement de 2 femmes ayant présenté une rubéole un peu plus de 6 mois auparavant, 1968 (61). Par contre BEST et BANATVALA 1969 (59) considèrent que la présence d'un foetus présentant une rubéole congénitale ne prolonge pas la persistance des anticorps de la fraction IgM dans le sérum maternel.

b) dans la fraction IgA :

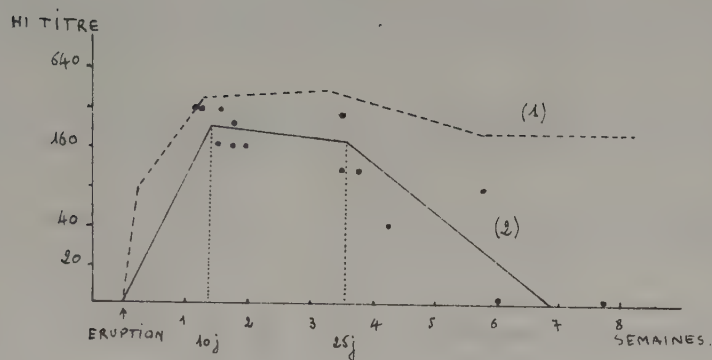
Les résultats sont discordants.

- . BÜRGIN-WOLFF : l'apparition et la disparition des anticorps dans les fractions IgA et IgM sont simultanées. Deux mois après l'éruption on ne retrouve pas d'anticorps dans ces fractions. CRADOCK-WATSON est du même avis et conclut que les anticorps des 2 fractions ont la même évolution.
- . OGRA 1971 (67), par contre, a montré d'une part que l'apparition des anticorps de la fraction IgA est plus tardive que celle des anticorps de la fraction IgM, d'autre part, qu'un an après l'éruption on retrouve encore des anticorps rubéoleux dans la fraction IgA. Cette discordance est explicable par la très grande sensibilité de la méthode utilisée par OGRA. Cette notion de sensibilité est très importante à considérer.

c) dans la fraction IgG :

Les anticorps sont retrouvés dans cette fraction, rapidement après l'éruption, et persisteront de nombreuses années, alors que ceux de la fraction IgM auront disparu. Ils témoignent alors d'une immunité ancienne.

C'est dans cette fraction que l'on retrouve les anticorps rubéoleux fixant le complément. En cas de rubéole, comme en cas de grippe ou "foot and mouth disease" on ne retrouve pas d'anticorps fixant le complément, dans les IgM mais seulement dans les IgG, BANATVALA 1969 (59), (74).



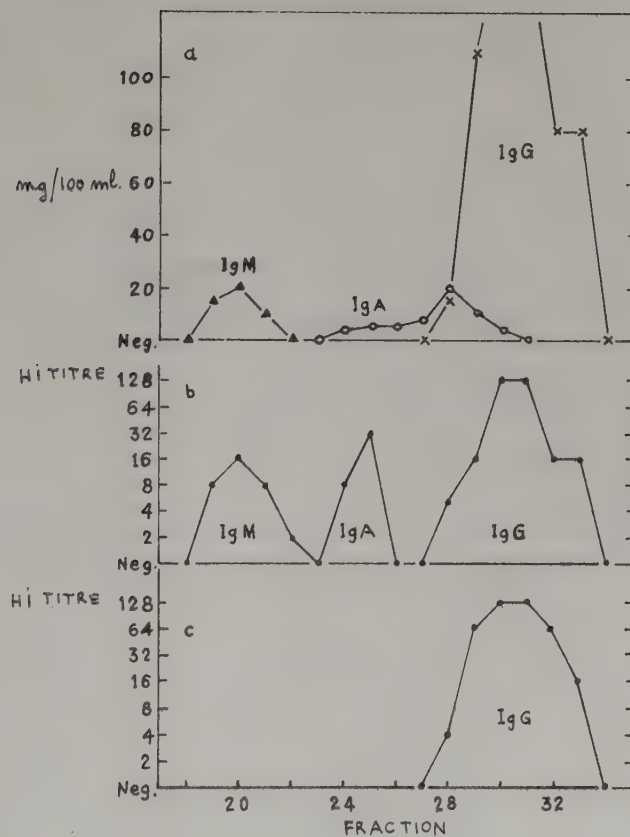
Evolution des anticorps inhibant l'hémacclutination du sérum total (1), et de la fraction IgM (2) des immunoglobulines au cours des primo-infections rubéoliques.

D'après FREYMUTH, 1973, (69)

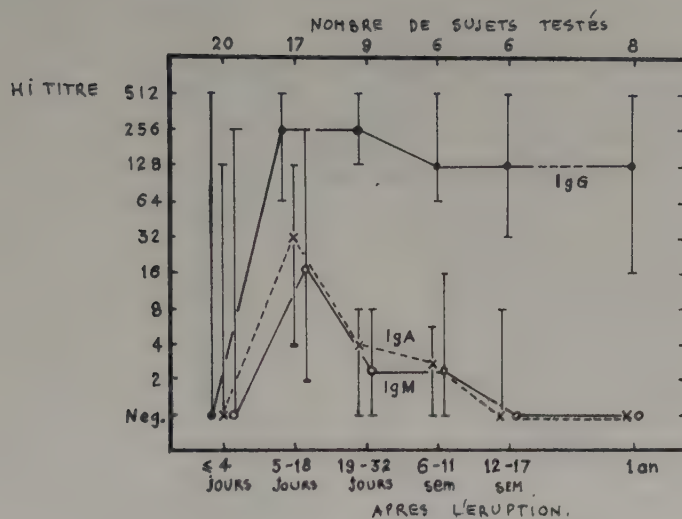
Fractionnement des immunoglobulines par gel-filtration sur
Agarose dans un cas de rubéole :

- a) taux des immunoglobulines en mg/100 ml, 4 jours après l'éruption
- b) HI titre dans les différentes fractions le 4ème jour après l'éruption
- c) HI titre dans les différentes fractions à la 7ème semaine.

D'après BÜRGIN-WOLFF, 1971, (71).

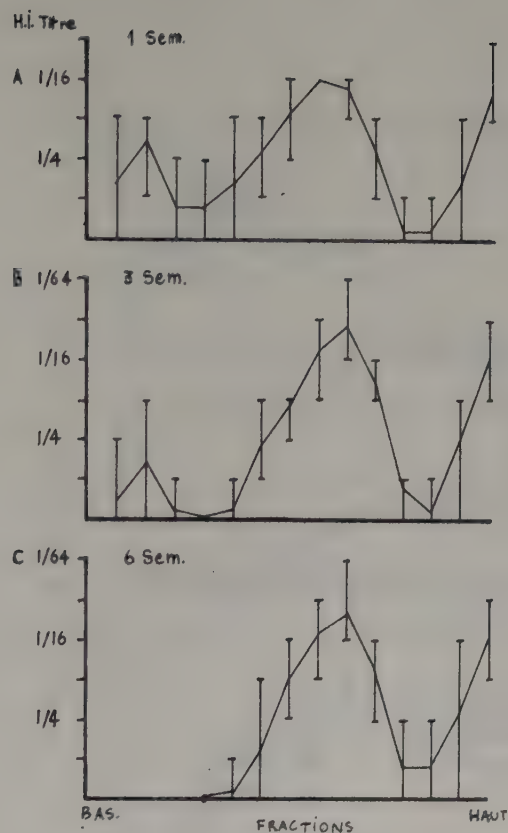


HI titre = Titre des anticorps inhibant l'héماغglutination



Moyenne géométrique et valeurs extrêmes du titre des anticorps inhibant l'hémacclutination dans les différentes fractions séparées par gel-filtration sur Acarose.

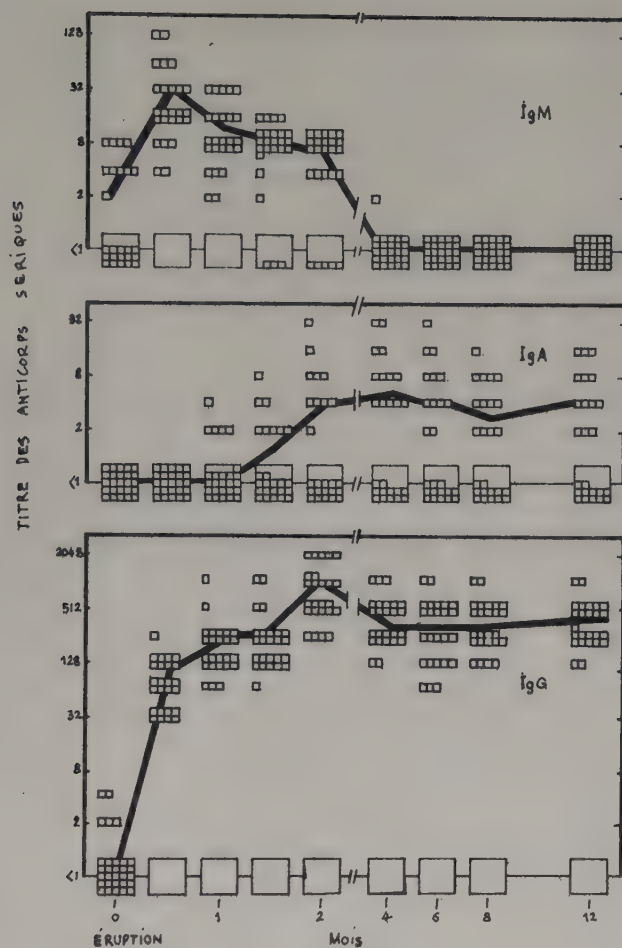
D'après BÜRGIN-WOLFF, 1971, (71).



Ultracentrifugation dans 5 cas de rubéole.

Moyenne géométrique et valeurs extrêmes du titre des anticorps inhibant l'hémagglutination dans les différentes fractions des immunoglobulines.

D'après VESIKARI, 1968, (64).



Titre des anticorps sériques dans les différentes fractions après rubéole naturelle. (Titre individuel et moyenne géométrique).

D'après OGRA, 1971, (67).

R U B E O L E E T G R O S S E S S E

L E R I S Q U E R U B E O L I Q U E

Alors que la rubéole naturelle acquise après la naissance, en dehors de la grossesse, est une maladie bénigne dont la seule véritable complication, l'encéphalite, est très rare, il n'en est pas de même lorsque la rubéole survient en début de grossesse. Ses conséquences sont alors très graves pour le produit de la conception.

N. McA. GREGG, ophtalmologiste australien a eu le mérite de faire le rapprochement entre la rubéole contractée par la femme enceinte au début de la grossesse et la naissance d'enfants présentant une cataracte congénitale, souvent associée à des malformations cardiaques. De nos jours, personne ne conteste l'origine rubéolique de certaines malformations, et la constatation de GREGG a eu de nombreuses conséquences.

Pendant de nombreuses années ce sont les maladies infectieuses transmissibles qui étaient responsables de la majeure partie de la mortalité infantile, puis les progrès de la médecine ont permis de ramener cette mortalité à un taux très bas. Si bien que de nos jours, pour tenter de diminuer encore cette mortalité infantile, l'attention des pédiatres s'est portée sur les affections congénitales. Celles-ci et surtout les malformations congénitales sont fréquentes et graves. En Grande-Bretagne (DUDGEON 1969 - 75), le pourcentage de malformations détectées à la naissance est de 1,75 %, à 5 ans 2,32 % des enfants présentent une malformation et ces malformations sont responsables de 20 % de la mortalité infantile. C'est assez dire l'importance du problème. Certes, environ 20 % des malformations sont dues à des facteurs génétiques, mais la plupart sont d'origine inconnue. Les médecins avaient depuis longtemps envisagé la possibilité d'une origine infectieuse. On avait invoqué une endocardite, cause des malformations cardiaques, mais elle n'avait jamais été mise en évidence. Quant à la syphilis accusée d'être la cause de nombreuses malformations, elle a presque disparu et les malformations persistent. Aussi les travaux de GREGG sur la rubéole ont-ils ouvert de nouvelles voies dans l'étude du déterminisme des malformations et attiré l'attention sur l'existence d'infections du fœtus in utero par différents virus.

D'un autre côté, l'obstétrique a également évolué. Les problèmes mécaniques, infectieux, dynamiques ont été successivement résolus et le but de l'accoucheur n'est plus seulement de mettre au monde un enfant "encore" vivant, mais un enfant qui ne gardera aucun "souvenir" de sa naissance et qui plus tard aura un développement normal. La connaissance du retentissement des maladies infectieuses, bactériennes, parasitaires ou virales sur la grossesse et le fœtus, l'existence de moyen permettant de les diagnostiquer, la possibilité de les prévenir ou de les traiter, expliquent l'intérêt des accoucheurs pour cet important chapitre de la pathologie de la grossesse.

Maladies virales et grossesse, l'infection fœtale et ses conséquences

Dans l'espèce humaine le fœtus peut être infecté par de nombreux virus lorsque la maladie survient chez la femme enceinte.

Mais les conséquences de l'infection fœtale sont variables.

- Certains virus n'ont pas ou ont peu d'effet sur le fœtus : ceci est bien connu pour de nombreux animaux de laboratoire et plusieurs virus. Chez la femme il est probable qu'elle est souvent infectée pendant la grossesse par les nombreux entérovirus et virus respiratoires, et que ces infections sont sans conséquences.
- D'autres virus entraînent la formation de lésions fœtales qui peuvent provoquer la mort du fœtus ou une maladie évolutive néonatale. C'est le cas du cytomégalo virus, du virus de l'hépatite sérique, mais aussi d'autres virus lorsque l'affection maternelle survient peu avant l'accouchement : rougeole, varicelle, vaccine, poliomyélite, oreillons, herpès. Si l'on excepte la rougeole le nouveau-né fait alors une maladie néonatale d'une extrême gravité, souvent fatale.
- D'autres virus entraînent des malformations. L'action tératogène du virus rubéoleux est indiscutable. Il semble établi que le cytomégalo virus et le virus herpétique sont également tératogènes, CATALANO et SEVER 1971 (76). Par analogie avec la rubéole d'autres virus ont été accusés de provoquer des malformations (virus coxsackie, des oreillons, de la grippe) mais aucun document clinique péremptoire ne permet de conclure de façon formelle qu'ils sont tératogènes.

Rubéole et grossesse :

Pendant une vingtaine d'années, seul le rôle tératogène de la rubéole a été reconnu. On a cru que la seule conséquence de la rubéole maternelle était l'apparition de malformations. Lors de la grave épidémie de 1964 aux USA, les progrès virologiques ont permis de reconnaître de nouvelles manifestations de la rubéole chez le fœtus. Il devint alors évident que le virus rubéoleux atteignait de nombreux organes et qu'il s'agissait d'une infection chronique du fœtus pendant toute la grossesse et que les malformations n'étaient pas seulement des séquelles d'une rubéole aiguë survenant pendant la période d'embryogénèse. Il est remarquable que les manifestations néonatales de la rubéole congénitale évolutive n'ont pas été décrites avant l'épidémie de 1964. En juin 1964 DUDGEON (77 - p. 21) présentait à Paris 36 cas de malformations rubéoliques, 11 des enfants présentaient thrombopénie et hépatosplénomégalie. Personne n'a réalisé la signification de cette association.

Pour essayer de faire le point des connaissances actuelles de ce très vaste sujet, nous envisagerons successivement :

- La pathogénie de l'atteinte ovulaire
- L'immunologie de la rubéole in utero
- Les conséquences de la rubéole sur la grossesse.

- LA PATHOGENIE DE L'ATTEINTE OVULAIRE -

Deux faits apparaissent fondamentaux :

- l'infection foetale est la conséquence de la rubéole maternelle, qu'elle soit apparente ou non.
- la fréquence et la gravité de l'atteinte foetale sont d'autant plus grandes que la rubéole est survenue plus précocement pendant la grossesse.

I - VOIES DE L'INFECTION :

Chez la femme enceinte, d'une manière générale, 4 voies pourraient permettre au virus d'atteindre le fœtus :

- . Le virus peut être présent dans les cellules de l'épithélium germinatif, voire dans l'ovule ou le spermatozoïde
- . Le virus peut être présent dans l'endomètre.
- . Le virus présent dans le sang de la mère traverse le placenta.
- . Le virus présent dans les sécrétions cervicales peut traverser les membranes.

Pour ce qui concerne la rubéole, l'infection du fœtus se fait par voie sanguine transplacentaire, mais les autres voies ne peuvent être éliminées avec certitude, surtout en ce qui concerne la dernière. SEPPÄLÄ 1970 (78) en effet a montré que le virus rubéoleux est très souvent retrouvé dans les prélèvements du col utérin, lors de la rubéole naturelle. De plus, l'importance de l'excrétion virale au niveau du tractus génital féminin est encore mal connue.

Dans l'espèce humaine la circulation foetale apparaît vers le 21^{ème} jour de la gestation et la circulation maternelle placentaire n'est complètement établie que vers la 5^{ème} semaine d'aménorrhée. La barrière placentaire qui sépare le sang maternel du sang fœtal constitue un obstacle au libre passage des particules virales. Cependant le virus rubéoleux traverse cette barrière placentaire. Il existe plusieurs possibilités :

- . Diffusion simple, elle est possible puisque chez le rat le microscope électronique permet de retrouver dans la circulation foetale les molécules de ferritine injectées à la mère.

- . Transport, par les cellules de la membrane placentaire, du virus d'un coté à l'autre
- . Multiplication du virus dans les cellules de la membrane placentaire qui semble être la voie de passage la plus importante du virus de la mère vers le fœtus.
- . Théoriquement une lésion vasculaire placentaire peut laisser passer le virus puisque l'on sait que les globules rouges et les plaquettes maternelles peuvent passer vers le fœtus. En fait ces lésions placentaires sont plus souvent dues à la multiplication du virus rubéoleux dans les cellules placentaires.

Le placenta est l'organe qui est préférentiellement infecté. Le virus rubéoleux y a été isolé pour la première fois par SELZER 1963 (79). Par la suite les études se sont multipliées. Souvent la recherche du virus se fait sur des débris ramenés lors d'avortements thérapeutiques par le curetage ou l'aspiration ce qui ne permet pas de différencier infection placentaire et infection fœtale. Quelques auteurs, cependant, ont recherché le virus séparément dans le placenta et le fœtus, lors d'avortements thérapeutiques.

ALFORD 1964 (80) : Diagnostic clinique							MONIF 1965 (82) : Diagnostic clinique				
Terme en semaines	Produit de conception		Placenta		Fœtus		Terme en jours	Produit de conception		Séparément 11 cas P F	
0-2	1/7	14%	1/5	20%	0/3	0%	1 - 30	14/23	61%	.	-
3-4	6/12	50%	4/8	50%	3/6	50%	31 - 60	13/18	72%	.	-
5-6	11/15	73%	8/10	80%	5/8	63%	61 - 90	4/7		.	+
7-8	4/8	50%	3/6	50%	1/5	20%	92	1/1		.	+
9-10	6/17	31%	5/13	29%	2/12	17%	128	1/1		.	+
11-12	2/6	33%	2/6	33%	0/5					.	+
13-16	1/3	33%	1/3	33%	0/3					.	+

Le taux d'isolement du virus à partir de l'oeuf est variable au cours du premier trimestre,

ALFORD 1964 (80), diagnostic clinique : 31/68 (46 %)

HORSTMANN 1965 (81), diagnostic clinique : 10/18 (56 %)

GREEN 1965 (22), rubéole certaine : 7/8 (88 %)

MONIF 1965 (82), diagnostic clinique : 32/50 (64 %)

RAWLS 1968 (83), diagnostic sérologique : 9/10 (90 %)

THOMPSON et TOBIN 1970 (84), diagnostic sérologique : 29/32 (91 %)

De l'étude de ces statistiques et en particulier de celles de ALFORD et MONIF plusieurs faits ressortent :

- la proportion d'oeufs infectés est largement supérieure à la proportion des enfants qui naissent porteurs de malformations et/ou de rubéole congénitale évolutive.
- le virus est retrouvé beaucoup plus fréquemment lorsque la rubéole maternelle survient précocement 22/42 de 0 à 8 semaines
9/26 de 9 à 16 semaines, ALFORD
- Si la recherche du virus est faite séparément elle est beaucoup plus souvent positive au niveau du placenta (24/51) qu'au niveau du fœtus (11/42), ALFORD.

La présence du virus rubéoleux au niveau de l'oeuf entraîne :

- . Des lésions histologiques placentaires assez caractéristiques
- . Une atteinte des cellules fœtales
- . L'apparition de malformations.

II - LÉSIONS HISTOLOGIQUES PLACENTAIRES

Les études histologiques du placenta sont peu nombreuses. En 1966 TONDURY et SMITH (85), étudient 67 oeufs recueillis de 1949 à 1964 à l'occasion d'avortements thérapeutiques. S. DRISCOLL 1969 (86) examine 79 placentas et plus récemment, ORNOY 1972 (87) à la suite d'une épidémie de rubéole en Israël a pratiqué une étude histologique. Les résultats de ces différentes études sont concordants.

a) S. DRISCOLL :

- sur les produits d'avortement du premier trimestre la lésion la plus typique est celle de la caduque, avec des amas de cellules inflammatoires mononuclées le long des glandes et des vaisseaux de l'endomètre, constitués de lymphocytes, histiocytes, polynucléaires

mais les plasmocytes sont très rares. Au centre de ces amas on retrouve quelques cellules déciduales nécrosées. Les corps d'inclusion éosinophiles intracytoplasmiques sont rares. Parfois l'infiltration inflammatoire est diffuse. L'atteinte du tissu villositaire est moins bien définie. La lésion la plus fréquente est celle des capillaires villositaires avec nécrose de l'endothélium. La villosité peut être entièrement nécrotique et entourée de fibrine. Quant aux cellules du stroma et de Hofbauer elles présentent pycnose nucléaire, haryorrhéxis et condensation cytoplasmique. Les membranes et le cordon ombilical sont normaux mais BLANC 1969 (88), sur une série de 11 enfants retrouve 3 fois une artère ombilicale unique.

- l'examen du placenta d'enfants nés à terme et présentant une rubéole congénitale retrouve les mêmes lésions qui souvent sont plus importantes avec oedème, sclérose et atrophie villositaire. La coexistence de lésions jeunes et cicatrisées montre que l'atteinte placentaire est continue.
- Lorsque la rubéole maternelle survient dans les jours précédant l'accouchement il n'y a aucune lésion placentaire, bien que le virus puisse être isolé du placenta.

b) ORNOY :

Cette étude est intéressante car l'interruption de la grossesse a été faite tardivement (5-6 mois) ce qui a permis une meilleure reconnaissance des malformations foetales à l'autopsie, et l'examen des placentas. Résultats :

lésions placentaires typiques : 10 fois sur 18 cas

malformations du fœtus : 9 fois sur 18 cas

Tous les enfants malformés dont le placenta a été examiné (8) sont associés à un placenta présentant des lésions typiques.

80 % des placentas présentant des lésions typiques sont associés à un enfant malformé.

c) A partir des lésions placentaires le virus atteint le fœtus par la circulation ombilicale. Il est probable que cette propagation se fait par l'intermédiaire des cellules infectées et nécrotiques des capillaires villositaires qui desquament dans la lumière des

vaisseaux. Diverses observations rendent ce mode de propagation très probable :

- TONDURY a montré une propagation analogue pour la vaccine et la varicelle.
- Lorsque le placenta ne présente pas de nécrose des cellules endothéliales des capillaires le fœtus n'est pas malformé dans 2 cas d'Ornoy.
- En immunofluorescence WOODS 1966 (89), a montré que de très nombreux organes sont infectés mais que dans chaque organe peu de cellules le sont.

III - L'ATTEINTE CELLULAIRE FOETALE :

Les cellules embryonnaires sont particulièrement sensibles aux virus. Cela est bien connu puisque les cellules d'embryon de poulet ont longtemps été utilisées pour la culture de nombreux virus. Le virus rubéoleux se multiplie dans les cellules de nombreux organes mais certains comme le cristallin, l'organe de Corti ou les cloisons cardiaques sont infectés préférentiellement.

IN VITRO : le virus sur cultures de cellules embryonnaires humaines n'entraîne l'apparition d'aucun effet cytopathogène de type lytique, la cellule survit et continue de produire du virus. Lors de la division cellulaire le virus peut passer de la cellule mère aux cellules filles. La culture du virus sur des cellules rénales, hypophysaires ou pulmonaires, embryonnaires fait apparaître une inhibition de la division cellulaire (après quelques repiquages il n'y a plus de mitose) : PLOTKIN et VAHERI 1967 (90) retrouvent dans ces cultures une protéine inhibant la division cellulaire des cellules diploïdes humaines. Mais la culture du virus sur cellules de peau, muscle ou muqueuse pharyngée n'entraîne pas d'inhibition de la division cellulaire.

Le virus rubéoleux entraîne un pourcentage de cassures chromosomiques largement supérieur dans les cultures de cellules diploïdes humaines par rapport aux cultures témoins, BOUE 1969 (91). La durée de vie des cellules infectées est diminuée.

IN VIVO : L'atteinte préférentielle de certains organes est évidente. Le caryotype des enfants présentant une rubéole congénitale montre de nombreuses cassures chromosomiques. La culture de cellules d'en-

fants décédés de rubéole congénitale est lente et la durée de vie des cellules est diminuée. L'autopsie de ces enfants montre une diminution du poids des organes et de la densité cellulaire si bien que ces enfants sont plus hypoplasiques qu'hypotrophiques, NAEYE, BLANC 1965 (92). Bien qu'il soit toujours hasardeux d'expliquer ce qui se passe in vivo par des études in vitro, la bonne concordance des données précédentes permet de retenir les faits suivants :

- les embols de cellules infectées atteignent de nombreux organes mais peu de cellules
- Ainsi apparaissent des clones de cellules infectées qui ont un taux de croissance faible car leur division est inhibée, qui ont une durée de vie diminuée, qui présentent des cassures chromosomiques entraînant la mort de la cellule fille qui hérite de la cassure lors de la division.
- la position intracellulaire du virus et son passage de la cellule mère à la cellule fille le met à l'abri des anticorps.

IV - LES MALFORMATIONS :

Elles sont la conséquence de l'infection de la cellule.

Deux mécanismes sont susceptibles d'entraîner l'apparition des malformations,

- la mort de la cellule
- une modification du rythme de croissance cellulaire, en plus ou en moins.

Ces deux mécanismes sont associés dans le cas de la rubéole.

a) la mort de la cellule : l'action cytolytique du virus au niveau du coeur, de l'oreille interne et du tissu musculaire est bien mise en évidence dans l'étude de TONDURY et SMITH 1966 (85) : Il existe une nécrose myocardique sous endocardique surtout au niveau de l'oreillette gauche. L'épithélium de la cochlée est nécrosé. Les lésions cytolytiques atteignent également foie et poumons. L'importance de la nécrose dépend du mécanisme limitant l'infection foetale et des capacités de cicatrisation et de réparation du fœtus.

b) les modifications du rythme de croissance cellulaire :

Nous avons vu qu'in vitro certaines cellules présentent une inhibition de la division cellulaire et d'autres non. Cette inhibition joue un rôle dans l'apparition des malformations. Il est probable qu'existe aussi une anomalie de la différenciation cellulaire par exemple au niveau du cristallin.

c) Les différentes malformations seront revues. Un fait intéressant est que la fréquence de l'absence de cloison interventriculaires est très grande chez le foetus infecté (5/9 foetus malformés-ORNOY) alors que cette anomalie est rarement retrouvée chez le rubéoleux congénital né vivant. Ceci souligne encore la capacité qu'a le foetus à réparer certaines lésions.

- IMMUNOLOGIE DE LA RUBEOLE IN UTERO -

L'étude des phénomènes immunitaires survenant chez le foetus lorsqu'il est infecté par le virus rubéoleux dans les premiers mois de la gestation est difficile et importante :

- difficile parce que les capacités immunitaires du foetus humain sont encore mal connues,
- importante parce que ces phénomènes immunitaires n'empêchent pas la persistance de l'infection virale.

Les idées sur ce sujet ont évolué : On a d'abord cru que le foetus faisait in utero une rubéole identique à celle de sa mère et que les malformations étaient les séquelles cicatricielles de cette infection. La période virologique a permis de mettre en évidence la persistance du virus et de sa multiplication chez le foetus et chez le nouveau né pendant les premiers mois. Ceci a fait parler d'immunotolérance : la présence de l'antigène viral n'entraîne pas de réponse immunologique de la part du foetus. Mais rapidement la présence d'anticorps a été montrée, aussi bien dans le sang du foetus que dans celui du nouveau né, ainsi que l'absence de virémie, (le seul cas de virémie associée à une rubéole congénitale a été décrit chez un enfant agammaglobulinémique, PLOTKIN 1966 (93). On a été conduit alors à incriminer un défaut de l'immunité cellulaire et/ou de la réponse en interféron. Une revue de ce sujet a été faite par RAWLS 1968 (83) in Progress in Medical Virology.

I - REPONSE EN ANTICORPS HUMORAUX :

Le foetus possède des anticorps. Ceux-ci peuvent être d'origine maternelle ou foetale.

a) Le transfert passif des anticorps maternels existe. La recherche des anticorps neutralisants le virus rubéoleux, chez le foetus d'une femme enceinte antérieurement immunisée contre la rubéole est positive précocement (foetus de 11-16 semaines). Ces anticorps sont obligatoirement des anticorps maternels qui ont traversé le placenta. Ce sont des IgG, car les seuls anticorps que possède la mère immunisée antérieurement sont de cette classe.

Il est connu que les IgG (P.M. 150 000) peuvent traverser la barrière placentaire. Dans la période néonatale la diminution du titre des anticorps rubéoleux de ces enfants est conforme à ce que l'on sait des IgG dont la demie vie est de 28 jours : ils disparaissent en 6-7 mois. En cas de rubéole congénitale, les anticorps maternels sont de 2 types : IgM puis IgG. Les IgM ne traversent pas la barrière placentaire, leur poids moléculaire est de 950 000. Il est possible de suspecter le placenta infecté par le virus d'entraver le passage des anticorps IgG maternels par adsorption des anticorps sur le virus. ALFORD 1965 (57) a montré qu'il n'en était rien. La proportion des anticorps maternels qui traversent le placenta est identique en cas de rubéole congénitale pour les anticorps rubéoleux et les anticorps anti-poliomyélitiques.

Cinétique du transfert des anticorps :

Deux semaines et parfois moins après l'apparition des anticorps maternels, les anticorps neutralisants de la fraction IgG sont retrouvés dans le sérum foetal. Leur titre est en moyenne égal à 5 % du titre maternel (de 2,5 à 9 %). Ce taux faible va persister pendant au moins 12 semaines après l'éruption maternelle lorsque celle-ci survient au début de grossesse. Vers la 16ème-18ème semaine de la grossesse le taux des anticorps de la fraction IgG du fœtus augmente brusquement pour se rapprocher du taux maternel. Ceci peut avoir 2 causes : augmentation du transfert placentaire et/ou production foetale d'anticorps de la fraction IgG. L'étude des anticorps antipoliomyélitiques montre que c'est l'augmentation du transfert placentaire qui joue le rôle le plus important puisque leur titre s'équilibre chez la mère et le fœtus.

La persistance de la présence et de la multiplication du virus se poursuit donc en présence d'anticorps rubéoleux. Il faut cependant remarquer que leur titre est faible et qu'il s'agit au début exclusivement d'IgG qui sont moins actives pour neutraliser le pouvoir infectieux du virus in vitro que les IgM. De plus il y a une période de 2 à 3 semaines entre le début de la virémie maternelle et l'apparition des premiers anticorps dans le sang du fœtus, ce qui permet au virus rubéoleux de s'implanter dans les cellules foetales.

b) la production foetale d'anticorps :

- Immunoglobulines G : On a longtemps pensé que le foetus était incapable de produire des IgG à l'état normal. Ce que semblait confirmer l'observation privilégiée de BRIDGE 1959 (94) : absence de gammaglobulines dans le sang d'un enfant né de mère agammaglobulinémique et apparition de celles-ci vers le 50ème jour de la vie. Cependant le développement de techniques plus précises a permis de montrer que le foetus avait une sécrétion propre de gammaglobulines, EICHWALD 1963 (95). Un autre argument en faveur de cette sécrétion a été apporté par MARTENSSON 1965 (96) qui a mis en évidence dans le sang du cordon des IgG dont les groupes Gm sont similaires à ceux du père et absents chez la mère.

En pathologie, l'autopsie de foetus morts in utero de toxoplasmose ou syphilis montre un développement du système lymphoïde foetal avec apparition de follicules lymphoïdes et de plasmocytes qui sont habituellement absents pendant la vie in utero, SILVERSTEIN 1962 (97), et dans les 3 mois qui suivent la naissance.

Il est possible mais non démontré, que lors de la rubéole congénitale le foetus produise des anticorps rubéoleux de la fraction IgG, par analogie avec d'autres infections congénitales, ALFORD 1973 (34-p.94).

- Immunoglobulines IgM : Comme les IgM ne traversent pas la barrière placentaire, les anticorps de cette fraction sont plus caractéristiques de la production foetale et plus faciles à étudier. La production de ces anticorps ne débute chez le foetus que vers la 20-24ème semaine de la grossesse, VAN FURTH 1965 (98), MATSEN 1967 (99), BERG 1969 (100). Avant cette période on ne retrouve pas chez le foetus d'anticorps de la fraction IgM (ni IgA). Par contre dans le sang du cordon de nouveaux nés même très prématurés dont la mère a fait une rubéole au début de la grossesse le fractionnement des immunoglobulines montre la présence d'anticorps rubéoleux dans la fraction IgM.

Ainsi se trouve-t-on devant un paradoxe immunitaire : absence de virémie, et persistance de la multiplication et de l'excrétion du virus chez un foetus ou un nouveau né dont on sait qu'il possède des anticorps IgG et IgM qui neutralisent le virus rubéoleux in vitro.

II - PERSISTANCE DE L'INFECTION VIRALE :

a) l'immunité cellulaire du foetus :

Le développement de l'immunité cellulaire du foetus normal est assez mal connu, car ses modes d'exploration sont complexes et les informations moins nombreuses. A la naissance l'enfant possède un système d'immunité cellulaire élaboré. Il est capable d'acquérir une hypersensibilité retardée à la tuberculine, au 2-4 dinitrofluorobenzène. Mais la chronologie de sa maturation est imprécise.

Le rôle de l'immunité cellulaire chez un sujet infecté par un virus a été surtout étudié pour les virus oncogènes (SV40 - virus polyome) chez l'animal. L'infection cellulaire par de tels virus entraîne la formation de nouveaux antigènes, dont certains apparaissent à la surface de la cellule. Cette cellule infectée reconnue comme différente, est alors rejetée. Pour le virus rubéoleux, par analogie avec les virus oncogènes, on peut supposer qu'une modification de la structure antigénique de la surface de la cellule infectée entraîne une réaction de rejet. La persistance de clones de cellules infectées serait due à l'incompétence de l'immunité cellulaire. Mais ceci n'est qu'une hypothèse.

Ce défaut de l'immunité cellulaire peut être du à :

- la destruction ou à une anomalie des précurseurs cellulaires des lymphocytes thymodépendants
- l'absence de reconnaissance des antigènes induits par le virus rubéoleux
- la présence du virus dans les lymphocytes qui jouent un rôle essentiel dans l'immunité cellulaire, DENT 1968 (101).

1/ la destruction des cellules thymiques primordiales ne semble pas pouvoir expliquer la persistance du virus. Car bien que le virus ait été isolé du thymus d'enfants présentant une rubéole congénitale, TONDURY et SMITH 1966 (85), ces enfants peuvent répondre à des antigènes par une réaction d'hypersensibilité retardée DENT 1968 (101).

2/ La date à laquelle l'immunité cellulaire foetale devient fonctionnelle n'est pas connue. Une hypothèse a été avancée que l'infection des cellules foetales par le virus rubéoleux avant que l'immunité cellulaire ne se développe entraînerait une tolérance aux antigènes cellulaires induits par le virus. Après la maturation de l'immunité cellulaire du foetus les cellules déjà infectées ne seraient pas détruites. Il est possible aussi que les antigènes viraux entraînent une stimulation antigénique plus puissante que les antigènes de la surface de la cellule induits par le virus, ce qui entraînerait une tolérance cellulaire sans tolérance humorale. Cependant rien ne permet d'affirmer ou d'infirmer de façon formelle une telle tolérance de l'immunité cellulaire.

3/ La stimulation par la phyto-hémagglutinine des lymphocytes d'enfants sans rubéole congénitale provoque leur transformation blastique. Chez les enfants présentant une rubéole congénitale plusieurs auteurs ont mis en évidence l'absence de réponse à la PHA, OLSON 1967 (102); MONTGOMERY 1967 (103), DENT 1968 (101).

Celle-ci persiste pendant les premiers mois de la vie et disparaît lorsque l'enfant grandit et que son état général s'améliore. La réapparition de la réponse à la PHA survient lorsque cesse l'excrétion virale.

Il a été montré, HÖLM et PERLMANN 1967 (104), que la capacité pour les lymphocytes de rejeter des cellules allogéniques *in vitro* dépendait de leur capacité à répondre positivement au test à la PHA. Ces mêmes auteurs ont montré que des sujets présentant un défaut de l'immunité cellulaire ont des lymphocytes qui ne réagissent pas à la PHA et que ceux-ci ont une capacité de destruction des cellules cibles diminuée (*in vitro*). Dans le cas de la rubéole congénitale, il est probable que c'est la présence du virus dans les lymphocytes, cellules dont la durée de vie est longue, qui entraîne une absence de réponse à la PHA. En effet des lymphocytes normaux infectés par le virus rubéoleux ne répondent pas à la PHA.

Il faut remarquer que la présence du virus dans les lymphocytes joue également un rôle dans la réponse en anticorps puisque MICHAELS 1969 (105), 1972 (106) a montré que les enfants atteints de rubéole congénitale et excréant le virus produisent peu ou pas d'anticorps

lorsqu'ils sont vaccinés contre la rougeole, la poliomyélite, le tétanos, la diphtérie.

En résumé on peut dire que la présence du virus dans les lymphocytes explique qu'ils ne répondent pas à la PHA et qu'en l'absence de cette réponse proliférative, ils n'entraînent pas la destruction des cellules infectées par le virus rubéoleux. Cependant certains auteurs ne retrouvent pas cette absence de réponse à la PHA DUDGEON 1969 (75) et pour d'autres cette absence de réponse est due à l'utilisation de doses insuffisantes de PHA, SIMONS et FITZGERALD 1968 (107)

b) L'interféron : Il est possible que le système interféron joue un rôle dans la persistance de l'infection virale. L'interféron est un des moyens non spécifiques de défense de la cellule lors d'une infection virale. Il s'agit d'une protéine synthétisée par la cellule infectée, qui n'est pas un inhibiteur viral mais qui entraînerait la production d'une protéine antivirale encore hypothétique, soit par une cellule voisine après que l'interféron ait diffusé dans les liquides extracellulaires, soit par la cellule infectée. Son action est prophylactique sur certains organes cibles car l'interféron peut diffuser dans le sérum avant les virus, mais peut également agir sur une cellule déjà infectée. Le système interféron intervient le premier après l'infection (en quelques heures). (108).

L'interféron n'a pas ^{été} retrouvé dans des cultures de cellules venant de foetus présentant une rubéole congénitale, RAWLS 1968 (83). Il n'a pas été retrouvé dans le sérum et l'urine d'enfants atteints de rubéole congénitale et excréant le virus, DESMYTER 1967 (109), alors que ces enfants, lorsqu'ils sont vaccinés contre la rougeole présentent une réponse normale en interféron.

La capacité de production d'interféron par un foetus de moins de 8 semaines n'est pas connue.

- LES CONSEQUENCES DE LA RUBEOLE SUR LA GROSSESSE -

Elles sont diverses et imprévisibles. Lorsqu'une femme contracte la rubéole pendant la grossesse et particulièrement pendant le premier trimestre le retentissement sur la grossesse est variable :

- Interruption de la grossesse : Avortement spontané ou mort foetale in utero
- Naissance d'un enfant vivant malade, présentant un syndrome malformatif et/ou une rubéole congénitale évolutive ("expanded rubella" des auteurs anglo-saxons). apparemment sain, mais chez lequel surviendront des anomalies, soit dans la première enfance, soit plus tard. sain, et qui le restera.

Nous envisagerons d'abord les aspects cliniques puis le diagnostic biologique de la rubéole congénitale.

A - LES ASPECTS CLINIQUES

I - L'INTERRUPTION DE LA GROSSESSE :

Elle peut être la conséquence de la rubéole. En dépit de nombreuses études, le risque d'interruption est mal connu. Dans l'appréciation des résultats il est nécessaire de tenir compte des avortements spontanés qui ne sont pas dus à la rubéole et du nombre des avortements thérapeutiques, certains de ceux-ci pouvant avoir été pratiqués sur des grossesses qui ne seraient pas allées à terme. SIEGEL et FUERST dans une importante étude prospective, 1966 (110), 1971 (111), estiment la fréquence des avortements après rubéole maternelles des 12 premières semaines de la grossesse à 18,7-20,6 % alors que pour les sujets témoins le pourcentage est de 13 %.

Entre 12 et 28 semaines il n'y a pas de différence significative entre les femmes rubéoleuses (4,3 %) et les témoins (3,8 %). Dans l'enquête du Minister of Health (G.B.) lorsque la rubéole survient pendant les 12 premières semaines le pourcentage des interruptions de grossesse est de 5 %, mais ce chiffre est discutable.

II - LE SYNDROME MALFORMATIF :

Ce sont les ex-embryopathies rubéoleuses séquelles de l'infection in utero qui ont été les premières connues. Les localisations classiques sont oculaires, cardiaques et auriculaires. Dans la majorité des cas les malformations ne sont pas isolées mais associées, l'atteinte de l'oreille interne avec surdité est par contre souvent isolée.

1 - Les lésions oculaires :

a) la cataracte nucléaire, unie ou bilatérale est l'atteinte la plus caractéristique de la rubéole congénitale. C'est cette lésion que GREGG 1941 observa chez 78 nourrissons dont la mère avait contracté la rubéole pendant la grossesse. Elle peut être discrète et passer inaperçue à la naissance en l'absence d'un examen ophtalmologique et il arrive alors qu'elle soit diagnostiquée aussi tard que le 8ème mois. Mais lorsqu'elle est développée à la naissance, elle est reconnue dès l'inspection. La périphérie du cristallin reste souvent assez transparente. Une microphthalmie peut être associée à la cataracte avec diminution de la fente palpébrale. C'est dans le cristallin que le virus rubéoleux a été isolé le plus tardivement : 3 ans dans un cas de MENSER 1967 (112), 31 mois dans un cas de COOPER 1969 (113), lors d'interventions.

b) la rétinopathie rubéoleuse est la lésion la plus fréquente caractérisée par la dégénérescence et la prolifération de l'épithélium pigmentaire. Il existe une alternance de zones de dépigmentation et de pigmentation, en particulier dans la région périmaculaire. Ces dépôts pigmentaires ne sont pas évolutifs. Cette rétinopathie peut être isolée ou associée à d'autres lésions oculaires.

c) le glaucome est plus rare que la cataracte, (1 glaucome pour 10 cataractes). Son apparition est parfois retardée par rapport à la naissance. La cornée est élargie, la chambre antérieure de l'oeil augmentée de volume, la tension oculaire élevée. L'intervention chirurgicale s'impose sans délai.

d) d'autres lésions sont possibles, iridocyclite, opacification transitoire du cristallin.

2 - Les lésions cardiaques :

Elles sont de plusieurs types, mais le plus souvent asymptomatiques à la naissance. L'atteinte cardiaque est très fréquente puisque sur 376 enfants atteints de rubéole congénitale 182 sont porteurs d'une cardiopathie congénitale rarement isolée (7 fois), COOPER 1969 (113). La rubéole n'est pas responsable de cardiopathie congénitale cyanogène comme la tétralogie de Fallot. Le diagnostic des lésions cardiaques est difficile et n'est possible que par l'angiocardioraphie et le catétherisme des cavités. Sur 87 enfants présentant une cardiopathie et complètement étudiés COOPER (113) retrouve :

- . 78 % de persistance du canal artériel
- . 70 % de sténose de l'artère pulmonaire droite
- . 56 % de sténose de l'artère pulmonaire gauche
- . 40 % de sténose des valvules pulmonaires
- . 14 % de rétrécissement aortique léger
- . 11 % d'artère sous clavière droite anormale
- . 10 % de communication interventriculaire.

La persistance du canal artériel est donc la malformation la plus fréquente. Mais l'atteinte du système artériel pulmonaire est retrouvée chez pratiquement tous les enfants ayant une malformation cardiaque.

Le plus souvent ces atteintes ne mettent pas en jeu le pronostic vital pendant la première année et restent asymptomatiques. Parfois cependant une insuffisance cardiaque rapide peut entraîner la mort ; s'il existe un canal artériel, seule la chirurgie d'urgence peut permettre la survie.

3 - Les troubles auditifs :

Ils ne sont pas décelés pendant la période néonatale et ce n'est que plus tard, chez l'enfant, qu'on peut en faire le diagnostic et en mesurer l'importance. Ils sont très fréquents et représentent souvent la ^{seule} manifestation de rubéole congénitale, en particulier quand la rubéole maternelle a été tardive. La surdité est permanente uni ou bilatérale. Lorsque la surdité est sévère elle peut entraîner secondairement des troubles du langage. Elle est

neurosensorielle due à l'atteinte de l'organe de Corti si bien qu'il n'existe pas de troubles de l'équilibre. Dans certains cas existerait également une atteinte centrale.

Il est habituel de dire que le diagnostic est tardif du fait des difficultés d'exploration de l'audition chez les jeunes enfants. Mais PECKHAN 1972 (114) a montré que certains enfants dont l'audition était normale à l'âge de 2-3 ans présentaient des troubles de l'audition à 6-7 ans, ce qui suggère que ces troubles peuvent apparaître progressivement. On considère de nos jours que 20-25 % des surdités par atteinte de l'organe de Corti sont d'origine rubéoleuse, GUMPEL 1971 (115).

III - LE SYNDROME DE RUBEOLE CONGENITALE NEONATALE EVOLUTIVE :

"expanded rubella"

Il comporte de nombreuses manifestations qui peuvent être associées ou non à des malformations.

1 - le poids de naissance : Le faible poids de naissance est un des caractères les plus constants de la rubéole congénitale. Sur 22 enfants, KORONES (116), le poids moyen est de 2340 g alors que la durée de la grossesse est de 39,2 semaines en moyenne. Pour COOPER (113) le poids de naissance est inférieur au 10ème percentile dans 60 % des cas à la naissance. Cette hypotrophie va persister quelques mois : PLOTKIN, 28 % des enfants ont encore un retard de croissance à l'âge de 2 ans, DESMOND (117), à 18 mois, 60 % des enfants ont un poids inférieur de 3 déviations standard à la normale, 36 % ont une taille inférieure de 3 D.S. à la normale, 81 % ont un périmètre crânien inférieur de 3 D.S. à la normale. Il existe une étroite relation entre l'excrétion virale et le développement de l'enfant, lorsque l'excrétion virale cesse il y a une cassure sur la courbe de poids et le développement s'accélère, RAWLS 1967 (118).

Nous avons déjà vu les raisons qui expliquent en partie ce faible poids de naissance. Mais le rôle des altérations vasculaires dues au virus rubéoleux, aussi bien au niveau du placenta que des organes fœtaux, n'est pas négligeable. Ces altérations vasculaires entraînent une souffrance fœtale chronique par diminution des échanges fœto-maternels et diminution de la perfusion des organes.

2 - le purpura thrombopénique : Il est fréquent. Il est présent à la naissance ou apparaît quelques heures après. Il atteint surtout la tête et la partie supérieure du thorax, il est de caractère pétéchial sans ecchymose. Les hémorragies (digestives, ombilicales) sont très rares. La thrombopénie est intense, la numération des plaquettes peut atteindre des chiffres inférieurs à 10 000/mm³, puis elle régresse au bout de 1 à 2 semaines, rarement plus tard. Le myélogramme montre une diminution des mégakaryocytes. Ce purpura doit être rapproché du purpura que l'on observe au cours de la rubéole de l'enfant. Cependant en cas de rubéole congénitale évolutive du nouveau né le purpura est rarement isolé. Le plus souvent il s'accompagne d'hépatosplénomégalie, de lésions osseuses, d'anémie hémolytique et de signes neurologiques. Son pronostic est alors grave avec une mortalité atteignant 35 %.

3 - les lésions osseuses se traduisent sur les radiographies par la juxtaposition d'opacités linéaires et de zones claires disposées longitudinalement au niveau de la métaphyse des os longs, avec irrégularité du cartilage de conjugaison. Ces images sont très proches de celles de la syphilis congénitale mais dans le cas de la rubéole il n'y a pas de réaction périostée. Ce sont surtout les extrémités, distales du fémur, et proximales du tibia, les métaphyses chondro-costales, qui sont atteintes. Les images radiologiques disparaissent en 1 à 2 mois.

4 - l'anémie hémolytique est possible, en général bien compensée, disparaissant en 6 mois. La numération formule sanguine montre une érythroblastose et une réticulocytose qui témoignent de l'intense activité érythropoïétique, le myélogramme montre une hyperplasie érythrocytaire. Le foie et la rate sont augmentés de volume, témoins de l'hématopoïèse extramédullaire.

5 L'hépatite se traduit par un ictère précoce avec augmentation de la bilirubine et des transaminases. Il n'est pas possible de savoir exactement si la guérison se fait sans séquelles.

6 - Les manifestations neurologiques sont particulièrement importantes à considérer car elles sont très souvent la source de séquelles ultérieures graves. A la naissance mis à part une microcéphalie, éventualité assez rare, il y a peu ou pas de troubles neurologiques.

Dans le liquide céphalorachidien existent souvent une pléiocytose et une augmentation des protides. Nous verrons que les manifestations neurologiques sont surtout le fait de la rubéole congénitale à début tardif.

7 - d'autres manifestations plus rares ont été décrites :

- . atteinte myocardique avec altérations électrocardiographiques du type de l'infarctus du myocarde
- . atteinte pulmonaire
- . anomalies dentaires
- . anomalies des dermatoglyphes avec pli palmaire médian, pli de Sydney, plus grande fréquence des tourbillons digitaux.
- . anomalies de la répartition des immunoglobulines : dysglobulinémie de type 1 avec des taux élevés d'IgM, un abaissement des IgA et des IgG, avec tendance aux infections.
- . quelques cas d'atrésie oesophagienne, jéjunale, de mongolisme, mais il faut tenir compte des coïncidences possibles.

IV - LA RUBEOLE CONGENITALE A DEBUT TARDIF :

1 - entre 3 mois et un an les enfants apparemment normaux à la naissance peuvent voir apparaître des signes d'atteinte rubéoleuse. Il peut s'agir d'une affection pulmonaire avec tachypnée, cyanose, toux qui souvent entraîne la mort. A l'autopsie il existe une pneumonite interstitielle que certains pensent être de nature immunologique, MARSHALL 1970 (77 - p. 3).

Parfois l'enfant présente une éruption semblable à celle de la rubéole naturelle acquise après la naissance. Dans quelques cas cette éruption ressemble à celle de certains types d'histiocytose. Elle est chronique, son évolution s'étale sur plusieurs semaines avec des variations d'intensité.

Quant à la surdité, son diagnostic est souvent tardif devant un retard ou une anomalie du langage.

A cette période, en fait, ce sont les problèmes neurologiques qui sont les plus importants : DESMOND 1969 (119), 1971 (117), a étudié les troubles neurologiques de 100 enfants présentant une rubéole congénitale évidente (malformations caractéristiques, rubéole néonatale évolutive) pendant 18 mois. La fréquence des troubles neuro-

logiques est extrême puisque 81/100 ont présenté au moins une fois une symptomatologie en rapport avec le système nerveux central au cours de la première année. Trois grands types de symptomatologie ont été observés :

Type A : de loin le plus fréquent, 60 %.

Les enfants sont léthargiques, hypotoniques et peu actifs, avec une fontanelle antérieure largement ouverte et bombée. Rapidement ils deviennent irritables et agités, avec une hyperréactivité générale aux stimuli. Malgré une alimentation difficile, la plupart prennent plus que la quantité habituelle de nourriture. Une asymétrie transitoire du tonus et des réflexes est fréquente. La majorité des enfants sont hypotoniques mais certains sont hypertoniques avec une attitude en opisthotonos. Entre 6 mois et un an la moitié des enfants s'améliore et commence à se développer de façon plus satisfaisante alors que les signes neuromoteurs persistent chez les autres.

Type B : C'est un enfant petit, hypotonique, "sage" dont l'activité motrice et le comportement social se développent. La prise de poids est lente. L'amélioration dans ce groupe survient en général entre 9 et 12 mois.

Type C : La première manifestation anormale est soit une convulsion soit un tableau de pseudoméningite. Le début est parfois aussi tardif que le 7ème mois de la vie.

Dans ces 3 groupes le LCR présente une élévation des protéines et une pléiocytose modérée. Le virus est fréquemment isolé du LCR, parfois jusqu'à 18 mois. L'EEG est souvent perturbé.

2 - Bilan à 18 mois : A cet âge sur 100 enfants, 20 sont morts, 16 perdus de vue, 44/64 présentent des anomalies neurologiques. Les séquelles les plus fréquentes sont les troubles neuromoteurs, le retard ou l'absence de langage, un périmètre crânien occipitofrontal inférieur de 3 D.S. à la normale. Les troubles du langage qui persistent ne sont pas toujours la conséquence d'une anomalie de l'audition, ils sont parfois d'origine centrale.

V - LA RUBEOLE CONGENITALE INAPPARENTE :

Certains enfants peuvent apparaître entièrement normaux à la naissance alors qu'ils sont porteurs de virus rubéoleux. SCHIFF 1965 (120), sur 43 enfants chez lesquels le virus a été isolé, 33 sont normaux. Bien sûr souvent des anomalies apparaissent chez de tels enfants ultérieurement, mais il n'en reste pas moins qu'un certain nombre de ces enfants resteront normaux.

VI - AVENIR A LONG TERME DES ENFANTS NES PORTEURS D'UNE RUBEOLE CONGENITALE :

Une question importante est de savoir quel est l'avenir à long terme des enfants ayant présenté une rubéole congénitale. MENSER 1967 (121) a revu à l'âge de 25 ans les premiers cas de rubéole congénitale publiés par GREGG en 1941. Il apparaît que ces sujets présentant presque tous une surdité (48/50), sont bien adaptés à leur milieu, travaillent et sont en général d'intelligence moyenne. Le pronostic fait pendant la période infantile est en général trop pessimiste.

Certains enfants pour lesquels les pédiatres avaient prédit un retard mental important se sont développés normalement. Huit femmes atteintes de rubéole congénitale ont accouché : un des enfants était atteint de rubéole congénitale dont l'origine n'est pas connue. Cette étude est rétrospective, ses résultats doivent être interprétés avec prudence car il est possible que ces sujets présentent une forme légère de l'affection. Elle a en outre montré, par comparaison avec des sujets témoins donneurs de sang que le taux des IgG chez les hommes et le taux des IgA chez les femmes ayant eu une rubéole congénitale étaient plus élevés.

B - LE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE LA RUBEOLE CONGENITALE

Le problème se pose de façon différente selon l'âge de l'enfant.

1 - jusqu'à 6 mois :

La rubéole néonatale est évolutive ce qui explique que le nouveau né élimine le virus et qu'il est le plus souvent le siège d'un processus actif de défense antivirale avec production d'anticorps spécifiques.

a) l'isolement du virus : Il peut se faire à partir de plusieurs sources : urine, fécès, sécrétions conjonctivales mais surtout à partir des sécrétions nasopharyngées et du liquide céphalorachidien. Comme le montre le tableau suivant la proportion d'enfants excréant le virus diminue avec l'âge.

COOPER et KRUGMAN 1966 (122)		COOPER 1969 (113)		LINDQUIST 1965 (123)		RAWLS 1967 (118)	
1er mois	63 %	1er mois	84 %	1er mois	77 %	1er mois	40 %
5ème mois } 6ème mois } 7ème mois }	31 %	2ème mois	62 %	2ème mois	55 %	2ème mois	
		3ème mois		3ème mois		3ème mois	
		4ème mois		4ème mois	25 %	4ème mois	18 %
		5ème mois	33 %	5ème mois		5ème mois	
		6ème mois		6 mois et +	0	6ème mois	
		7ème mois				7ème mois	34 %
		8ème mois	11 %			8ème mois	
		9ème mois				9ème mois	
		10ème mois				10ème mois	
12ème mois	7 %	11ème mois	3 %			11ème mois	5,4 %
3 - 15 ans	0	12ème mois				12ème mois	
		13 - 20 mois				16 - 18 mois	

C'est dans les sécrétions nasopharyngées que le virus est le plus souvent isolé. Sa présence affirme le diagnostic, son absence ne l'élimine pas mais oblige à recourir à d'autres moyens diagnostiques.

b) le dosage des immunoglobulines totales dans le sang du cordon ou du nouveau né apporte peu de renseignements. MAC CRACKEN 1969 (124) a étudié les immunoglobulines totales de nouveaux nés atteints de rubéole congénitale dans le sang du cordon. Le taux des immunoglobulines est supérieur ou égal à 20 mg/100 ml chez 18,2 % des nouveaux nés atteints et dans ce cas il s'agit toujours d'enfants gravement atteints où le diagnostic est évident cliniquement. De plus 10% des témoins ont un taux supérieur ou égal à 20 mg/100ml.

c) Le diagnostic sérologique a par contre beaucoup plus de valeur. Cependant il ne permet de conclusions sûres que tardivement. La positivité de la réaction d'inhibition de l'hémagglutination ne constitue pas pendant cette période une preuve formelle de rubéole congénitale car elle peut être due à la présence d'anticorps maternels transmis.

passivement pendant la grossesse. Aussi faut-il titrer les anticorps rubéoleux à plusieurs reprises dans le sérum du nourrisson et considérer l'évolution du titre des anticorps. Si le titre des anticorps ne diminue pas pour disparaître vers le 6ème mois et à fortiori si ce titre reste constant ou augmente, c'est qu'il s'agit d'une rubéole congénitale.

Il faut noter que 5 % des nouveaux nés présentant une rubéole congénitale excréant le virus n'ont pas d'anticorps, ce fait est inexplicable, PLOTKIN (34 - p. 76)

d) le fractionnement des immunoglobulines et la recherche des anticorps rubéoleux dans la fraction IgM, bien que la méthode soit plus complexe, est le meilleur moyen diagnostique. Le fractionnement permet un diagnostic rapide sur le sang du cordon car la présence d'anticorps de la fraction IgM dans le sang du cordon signe la rubéole congénitale, ces anticorps qui ne peuvent traverser la barrière placentaire ne pouvant avoir qu'une origine foetale.

2 - de 6 mois à 5 ans :

a) l'isolement du virus reste possible jusqu'à 18 mois. Entre 12 et 18 mois le pourcentage d'enfants excréant le virus est très faible. Mis à part un cas exceptionnel de RAWLS 1968 (83) où le virus a été isolé de la gorge d'un enfant de 30 mois, on peut considérer 18 mois comme la limite au-delà de laquelle le virus n'est jamais retrouvé. La persistance du virus étant plus longue dans le LCR, c'est là qu'on le cherchera préférentiellement.

b) le diagnostic sérologique : la présence d'anticorps rubéoleux entre 6 et 12 mois, signe la rubéole congénitale, les anticorps d'origine maternelle ayant disparu. Au delà, le problème de l'interprétation de la sérologie se complique. L'enfant peut faire une rubéole naturelle et la présence d'anticorps ne sera pas due à une rubéole congénitale. D'autre part, certains enfants atteints de rubéole congénitale vont voir leurs anticorps rubéoleux diminuer puis disparaître. A 5 ans 18,5 % des enfants atteints de rubéole congénitale sont séronégatifs, COOPER 1971 (125). Cet auteur a d'ailleurs montré que lorsque ces enfants sont vaccinés par la souche HPV 77, seuls 10 % d'entre eux font une séroconversion.

Cette constatation peut aider au diagnostic dans les cas difficiles.

c) le fractionnement reste intéressant pendant les premiers mois, mais les anticorps de la fraction IgM diminuent lorsque l'excrétion virale cesse. Si, comme c'est probable, ces anticorps sont dus à la persistance de la stimulation antigénique, leur recherche à différentes reprises peut avoir une valeur pronostique. La diminution du titre laisse présager de la disparition de l'excrétion virale, VESIKARI 1969 (126).

3 - Après l'âge de 5 ans :

Lorsque l'enfant est scolarisé le risque de contagion est tel que le diagnostic sérologique devient inutilisable. Le diagnostic sera clinique. On parle de rubéole congénitale en présence d'au moins deux anomalies majeures du syndrome malformatif.

Il est certain qu'une anomalie isolée, en particulier surdité, peut être due à une rubéole gravidique, sans qu'on puisse jamais en faire la preuve.

R E I N F E C T I O N R U B E O L I Q U E

A - DEFINITION :

La réinfection ou infection virale récurrente est une infection survenant chez un sujet partiellement immunisé, CHANG 1971 (127). Elle est plus fréquente qu'on ne le croit généralement mais elle est presque toujours inapparente. Pour des affections telles que la variole ou la varicelle, longtemps considérées comme le type même des maladies conférant une solide immunité, des cas de réinfection ont été décrits. La réinfection peut être d'origine endogène (herpès récidivant par exemple) ou exogène comme dans le cas de la rubéole. Elle se traduit par une augmentation significative du taux des anticorps rubéoleux. Cette réponse de type rappel ne se fait que dans la fraction IgG des immunoglobulines.

L'existence des réinfections rubéoliques soulève de nombreuses questions qui n'ont pas toutes reçu de réponse définitive :

- Quelle est la fréquence des réinfections chez les sujets naturellement immunisés contre la rubéole ? et rôle des réinfections dans la persistance des anticorps rubéoleux tout au long de la vie.
- Quelle est la fréquence des réinfections chez les sujets vaccinés ? et efficacité de la vaccination dans la prévention de la maladie.
- Un sujet réinfecté est-il contagieux pour l'entourage ? et l'efficacité de la vaccination dans l'éradication de la maladie.
- Comment faire le diagnostic d'une réinfection ? et existence de primo-infection sans anticorps de la fraction des IgM ou existence de réinfection avec des anticorps de la fraction IgM.

B - FREQUENCE DES REINFECTIONS :

La fréquence des réinfections est variable car elle dépend de nombreux facteurs :

- réinfection de sujets naturellement immunisés ou vaccinés
- réinfection expérimentale (inoculation par IM) ou lors d'une épidémie, dans le premier cas la dose du virus est probablement beaucoup plus importante que dans le deuxième cas.
- réactions sérologiques utilisées pour le diagnostic.

De nombreux auteurs ont étudié les réinfections rubéoliques.

- Expérimentalement, le chimpanzé vacciné et réinoculé est réinfecté dans 100 % des cas, HORSTMANN (128).

- la réinfection peut être le fait d'une vaccination : c'est le cas du sujet présentant un titre faible d'anticorps rubéoleux qui est vacciné. La vaccination entraîne parfois, mais non toujours, une ascension du titre des anticorps qui traduit la réinfection.
- MEYER et PARKMAN (129) ont estimé le taux de réinfection lors d'une épidémie chez des sujets naturellement immunisés à 2/20 et 2 % respectivement.

- Des sujets vaccinés ont été réinfectés expérimentalement, SCHIFF 1969 (130), ou lors d'une épidémie :

CHANG 1970 (131)	Cendehill	Réinfection 4/9	
ABRUTYN 1970 (132)	HPV77 DK12	Réinfection 9/206	4,4%
	HPV77 DE 5	Réinfection 28/213	13,1%
	HPV 80	Réinfection 26/213	12,2%
WILKINS 1969 (133)	HPV 77	Réinfection 7/8	

- Cependant ce sont les travaux de HORSTMANN 1970 (45), qui ont permis de mieux connaître les réinfections et leur fréquence. L'étude de HORSTMANN a porté sur 190 recrues militaires à FORT ORD (Californie) lors d'une épidémie et suivies cliniquement, virologiquement, sérologiquement d'une manière rigoureuse.

Ces 190 sujets étaient :

- 26 séronégatifs
- 15 vaccinés par la souche Cendehill 2 à 3 mois auparavant
- 149 naturellement immunisés.

Après l'épidémie

les 26 séronégatifs ont fait une rubéole, apparente (9), inapparente (17)

10 vaccinés sur 15 présentent une augmentation significative du titre des anticorps inhibant l'hémagglutination (66 %)

12 vaccinés sur 15 présentent une augmentation significative du titre des anticorps inhibant l'hémagglutination et/ou des anticorps fixant le complément (80 %).

15 vaccinés sur 15 présentent une augmentation des précipitines anti-iota.

5 sujets naturellement immunisés sur 149 présentent une augmentation significative du titre des anticorps inhibant l'hémagglutination (3,4 %).

Cette étude permet de faire plusieurs constatations :

- 1/ Aucune réinfection n'a été clinique, toutes sont sérologiques.
- 2/ Aucun des réinfectés n'a présenté de virémie. Une réserve doit cependant être faite. Il est possible que le titre du virus soit trop faible ou que la virémie soit transitoire, ce qui empêche son isolement. Chez le vacciné par voie sous-cutanée, par exemple, la virémie existe puisque le virus est retrouvé dans la gorge, mais il est très exceptionnel de la mettre en évidence.
- 3/ Parmi tous les sujets réinfectés, le virus n'a été isolé dans les prélèvements de gorge que chez un seul vacciné, jamais chez un sujet naturellement immunisé. Dans une autre étude DAVIS 1971 (134), estime le titre du virus dans les prélèvements de gorge à $10^{0,7}$ D.I.C.T. 50/0,1 ml.
- 4/ Chez le vacciné le pourcentage de réinfection dépend des réactions sérologiques utilisées pour le diagnostic.

. Réaction d'inhibition de l'hémagglutination	66 %
. Réaction d'inhibition de l'hémagglutination et réaction de fixation du complément	80 %
. Recherche des anti-précipitines anti-iota	100 %

Cette dernière recherche est particulièrement intéressante dans le diagnostic des réinfections chez le vacciné. La vaccination augmente le titre des précipitines anti-theta (15/15), mais n'augmente pas le titre des précipitines anti-iota (1/15). L'infection rubéolique naturelle augmente régulièrement le titre des 2 types de précipitines, (26/26). Après l'épidémie tous les vaccinés présentent une augmentation des précipitines anti-iota.

La recherche des précipitines anti-iota est également intéressante pour mettre en évidence la réinfection du sujet naturellement immunisé. En effet, un sujet immunisé naturellement présente une augmentation des 2 types de précipitines et au bout de 5 ans seules persistent les précipitines anti-theta. Dans cette étude, les 5 sujets naturellement immunisés et réinfectés n'avaient pas de précipitines anti-iota, (la primo-infection datant probablement de plus de 5 ans), après l'épidémie 4/5 avaient des précipitines anti-iota.

- 5/ le risque de réinfection est d'autant plus grand que le titre des anticorps inhibant l'hémagglutination est plus bas.
- 6/ Lorsqu'il existe des anticorps fixant le complément, la fréquence des réinfections est moindre. Chez les vaccinés les anticorps fixant le complément n'apparaissent que dans 40 % des cas (6/15) et il est remarquable que c'est dans le groupe sans anticorps fixant le complément que la fréquence des réinfections est la plus grande. Ainsi apparaît un aspect qualitatif de la résistance à la réinfection.
- 7/ Après réinfection, la moyenne géométrique du titre des anticorps inhibant l'hémagglutination des vaccinés augmente pour devenir égal à celle des sujets naturellement immunisés.

C - REINFECTION DE LA FEMME ENCEINTE :

Il est particulièrement important de connaître l'influence d'une réinfection rubéolique sur le produit de la conception et surtout de savoir s'il existe ou non un risque pour le fœtus. Devant la fréquence des réinfections chez les sujets vaccinés avec succès quelques mois auparavant, il est permis de se demander ce qui se passera lorsqu'une femme enceinte, vaccinée 10 à 15 ans plus tôt en période prépubertaire, sera de nouveau en contact avec le virus rubéoleux. Un début de réponse a été apporté par A. BOUE 1971 (135) et (136) qui a décrit 3 cas de réinfection chez la femme enceinte naturellement immunisée. Dans les 3 cas le sérum des nouveaux-nés, à la naissance, ne contenait pas d'anticorps rubéoleux dans la fraction IgM des immunoglobulines, mais seulement dans la fraction IgG : Ce sont des anticorps transmis par la mère.

Ces observations jointes au fait qu'il n'a jamais été décrit (hormis chez les jumeaux) deux cas de rubéole congénitale dans la même fratrie et l'absence d'isolement du virus rubéoleux dans le sang des sujets réinfectés, font que la plupart des auteurs considèrent, actuellement, que la réinfection ne constitue pas un risque pour le produit de la conception.

D - LE DIAGNOSTIC D'UNE REINFECTION

Si le moment du contagage ne peut être exactement précisé, ce qui est fréquent et ne permet pas d'affirmer que le premier prélèvement a été effectué dans la semaine suivant le contagage, il est impossible sur l'ascension du titre des anticorps, de différencier une infection primaire d'une réinfection. Il faut donc par d'autres examens préciser l'origine de cette ascension d'anticorps. Le meilleur critère est de déterminer dans quelles fractions des immunoglobulines s'est produite l'ascension des anticorps. A l'heure actuelle, la présence d'anticorps dans la fraction des IgM est caractéristique d'une réponse primaire au cours d'une infection récente, l'absence d'anticorps dans la fraction IgM est caractéristique d'une réponse immunitaire secondaire "effet de rappel".

D'un point de vue théorique, de nombreux auteurs hésitent à affirmer de façon formelle que toutes les réinfections rubéoliques s'accompagnent de l'absence d'anticorps dans la fraction des IgM, parce que l'on sait que l'administration répétée d'un antigène à un animal peut être suivie à chaque fois de l'apparition d'anticorps de la fraction IgM (77 p. 68). Il est possible que leur absence ne soit due qu'à la sensibilité insuffisante des méthodes utilisées.

Pour ce qui est d'affirmer que la présence d'anticorps de la fraction IgM traduit toujours une infection récente, nous avons vu qu'en cas de rubéole compliquée les anticorps IgM peuvent persister 30 à 38 semaines. Dans la mononucléose infectieuse cette persistance a été retrouvée, BANATVALA 1972 (137).

E - CONTAGIOSITE D'UN SUJET REINFECTE :

Il est probable qu'un sujet réinfecté n'est pas contagieux pour les personnes susceptibles de son entourage, car le titre du virus dans les sécrétions nasopharyngées est très faible lorsque la recherche du virus est positive. L'étude de WILKINS ne permet pas de l'éliminer formellement : aucun des sujets non immunisés au contact d'un vacciné réinfecté n'a fait de rubéole clinique ou sérologique, mais le virus n'a pas été isolé de la gorge du vacciné réinfecté.

F - REINFECTION RUBÉOLIQUE CLINIQUE :

Des cas de réinfection rubéolique clinique ont été décrits, WATSON 1965 (138), WILKINS 1972 (140) avec arthralgies ; chez la femme enceinte : HAUKENES 1972 (139), STRANNEGARD 1970 (141), NORTHROP 1972 (142). Ces cas doivent cependant être considérés avec la plus grande prudence. HAUKENES a reconnu pour le cas qu'il avait décrit que la positivité de la réaction d'inhibition de l'hémagglutination (1/20) du premier sérum était due à des inhibiteurs non spécifiques de l'hémagglutination, (143). Le cas de Northrop a été critiqué par BANATVALA, BEST 1973 (144), l'existence d'un titre d'anticorps inhibant l'hémagglutination de 1/20, 48 heures après l'éruption n'est pas un critère suffisant pour parler de réinfection. Quant à l'absence d'anticorps dans la fraction IgM un seul examen a été pratiqué 48 heures après l'éruption.

Il est possible que l'existence de fausses réactions positives en inhibition de l'hémagglutination dues à des inhibiteurs non spécifiques entraîne des diagnostics erronés de réinfection rubéolique clinique, et de réinfection avec présence d'anticorps inhibant l'hémagglutination dans la fraction IgM.

CONDUITE A TENIR DEVANT LE RISQUE RUBEOLIQUE

Le risque rubéolique n'existe pratiquement que chez la femme en âge de procréer. Nous envisagerons successivement, la conduite à tenir sur le plan prophylactique puis sur le plan curatif, en soulignant, d'emblée, que l'essentiel des préoccupations du médecin doit tendre vers la prévention de la rubéole. Il n'existe en effet aucun traitement de la rubéole pendant la grossesse et la prévention de l'infection foetale est pratiquement irréalisable.

- P_R_E_V_E_N_T_I_O_N___D_E___L_A___R_U_B_E_O_L_E_-

La prévention de la rubéole considérée d'une manière formelle est facile : Il suffit de reconnaître les femmes susceptibles de faire la maladie, c'est à dire celles qui ne sont pas immunisées et de les vacciner. Dans la réalité cette prévention se heurte à de nombreux obstacles aussi bien au niveau du dépistage que de la vaccination.

A - LE_DEPISTAGE_SEROLOGIQUE

C'est la seule méthode qui permette de reconnaître les femmes exposées au risque rubéolique. La pratique de la réaction d'inhibition de l'hémagglutination a facilité ce dépistage mais des difficultés persistent :

- . Cette réaction n'est pas prise en charge par la sécurité sociale
- . C'est avant la grossesse que la connaissance de l'état immunitaire présente un intérêt, car c'est dans ce cas que la prévention est possible. Malheureusement le sérodiagnostic de la rubéole est souvent pratiqué lors du diagnostic et de la déclaration de la grossesse. Il n'a alors de valeur que pour les grossesses ultérieures, ou comme moyen diagnostic si la femme est séronégative et qu'une rubéole survient.

Quand pratiquer le sérodiagnostic de la rubéole :

Il n'existe pas à l'heure actuelle de politique sur le plan national pour le dépistage de l'immunité rubéolique.

- la pratique du sérodiagnostic à la période pubertaire semble trop précoce. Une partie des jeunes filles séronégatives présenteront une rubéole naturelle dans les années qui suivent.
- La pratique du sérodiagnostic lors de l'examen prénuptial n'est pas obligatoire mais c'est à cette période que cet examen est le plus souvent demandé. Il faut remarquer que toutes les femmes enceintes ne sont pas mariées et qu'ainsi un pourcentage non négligeable de femmes arriveront à la grossesse sans que leur état immunitaire soit connu.

Il apparait donc que le rôle du médecin traitant est primordial. C'est lui qui peut faire prendre conscience aux femmes qu'il suit, avant la grossesse, de l'existence du risque rubéolique et de l'intérêt qu'il y a à pratiquer le sérodiagnostic.

Sérologie systématique :

Il existe une catégorie de femmes en âge de procréer pour lesquelles la pratique de la sérologie doit être systématique. Ce sont toutes les femmes qui sont professionnellement en contact quotidien avec de jeunes enfants. Certes la plupart sont immunisées mais encore faut-il en avoir la certitude. BOUE 1970 (146), sur 350 femmes travaillant dans les crèches de PMI n'en retrouve que 3 non immunisées, toutes âgées de 18 à 24 ans. Les principales professions exposées sont :

- les institutrices, parce que l'école est la plaque tournante de la contagion rubéolique.
 - les infirmières de pédiatrie, les puéricultrices, les sage-femmes.
- Le personnel médical peut être d'une part en contact avec de jeunes enfants présentant une rubéole postnatale naturelle et d'autre part en contact avec des enfants présentant une rubéole congénitale. Ce dernier point est particulièrement important car nous avons vu que ces enfants peuvent être apparemment normaux à la naissance. Si la rubéole maternelle a été inapparente ou non diagnostiquée aucune précaution ne pourra être prise. Le risque de contagion à partir de nouveaux-nés et nourrissons présentant une rubéole congénitale est extrême car ces enfants excrètent 100 à 1000 fois plus de virus qu'un enfant présentant une rubéole post natale, DUDGEON 1969 (75) Une étude de SCHIFF 1965 (147) a montré que 6 jeunes femmes sur 8 (75 %) non immunisées, s'occupant de tels enfants contractent la rubéole, (dont une après un seul contact de 90 minutes). Dans les mêmes conditions, mais avec des jeunes femmes s'occupant d'enfants atteints de rubéole post natale, le pourcentage de contagion est de 50 %.

Conduite à tenir en fonction des résultats de la sérologie :

1/ chez la femme non enceinte :

immunisée : il suffit d'expliquer la signification du résultat.

non immunisée : il faut conseiller la vaccination, tout en prévenant une grossesse par une méthode contraceptive, nous reviendrons sur ce problème.

2/ Chez la femme enceinte :

immunisée : il n'y a pas de risque pour le fœtus.

non immunisée : comme la vaccination est contre indiquée pendant la grossesse, il faudra que la femme essaie de prendre des précautions pour éviter la contagion et répéter le sérodiagnostic pendant la période où le risque est grand, c'est à dire pendant les quatre premiers mois.

La contagion est directe, rhino-pharyngée, et nécessite le plus souvent un contact prolongé. SEVER 1965 (21), dans l'étude statistique qu'il a faite de l'épidémie américaine de 1964 retrouve :

- . 54 % des cas : contagion familiale, le plus souvent due à un enfant ; ainsi la primigeste est moins menacée.
- . 30 % des cas : contacts prolongés en dehors de la famille.
- . 16 % des cas : contacts épisodiques.

La rubéole est certes une maladie contagieuse, mais moins que la rougeole ou la varicelle : 25 % des femmes séronégatives avant l'épidémie ont contracté la rubéole, 75 % ne l'ont pas faite.

B - PROPHYLAXIE ACTIVE : LA VACCINATION

Le seul moyen d'éviter la rubéole congénitale est de vacciner les femmes non immunisées avant qu'elles ne soient enceintes. Il existe actuellement 3 types de vaccin, dont 2 sont commercialisés en France. Ce sont tous des vaccins à virus vivant atténué.

Dès que le virus a été isolé les chercheurs ont essayé de mettre au point un vaccin et leurs efforts se sont portés sur l'obtention d'un vaccin inactivé.

I - VACCIN INACTIF :

Un tel vaccin aurait présenté de nombreux avantages :

- possibilité de vacciner les femmes sans avoir à prendre de précautions particulières, c'est-à-dire sans avoir à éliminer une grossesse, ce qui est appréciable pour une vaccination de masse.
- possibilité de vacciner la femme enceinte séronégative.
- absence de contagion d'un sujet vacciné pour une femme enceinte séronégative.

Malheureusement ce fut un échec. Le virus inactivé s'est révélé non antigénique ou lorsqu'il entraînait une réponse immunologique, celle-ci était due à des traces de virus vivant et provoquait une rubéole clinique.

Les travaux se sont poursuivis avec inactivation du virus par les ultraviolets puis la bêtapropiolactone ou les rayons gamma. Le vaccin obtenu peut entraîner la formation d'anticorps après plusieurs injections mais ces anticorps diminuent rapidement et surtout n'empêchent pas toujours l'existence d'une virémie lorsque les animaux vaccinés sont inoculés avec le virus rubéoleux.

Aussi ce type de vaccin n'est pas utilisé.

II - VACCIN ATTENUÉ VIVANT :

Ce sont MEYER et PARKMAN en 1966 qui, après avoir étudié les critères permettant d'apprécier les modifications des propriétés du virus en culture, ont isolé la première souche virale atténuée : la souche HPV 77 (77 High Passage Virus). Ce vaccin est le premier vaccin et le seul, capable de prévenir les malformations congénitales.

Pour qu'un virus vivant atténué soit utilisable comme vaccin chez l'homme il faut que 5 conditions soient réunies (CHERRY).

- Il ne doit provoquer aucune réaction ou une réaction faible.
- le vacciné ne doit pas être contagieux pour l'entourage : condition impérative dans le cas de la rubéole.
- Il doit entraîner une bonne réponse immunologique, comparable à celle de la maladie naturelle.
- Il doit prévenir la maladie naturelle
- Il ne doit pas apporter d'éléments étrangers en particulier virus.

a) la souche HPV 77 et les souches dérivées :

Ces souches sont nombreuses mais aucune n'est utilisée en France. Ce sont HPV 77, HPV 77 DK 12, HPV 77 DE 5, mais aussi HPV 120, HPV 150 CE 10, HPV 166 CE 5 et les souches BENOIT B, C, D, E.

La souche HPV 77 a été obtenue par 77 passages du virus rubéoleux sur cultures de cellules primaires de singe Cercopithécus aethiops (AGMK).

La vaccination n'entraîne pas de rubéole clinique. Le virus est retrouvé dans la gorge du 7ème au 22ème jour. Habituellement la virémie, qui existe, n'est pas décelée. Cependant, c'est le seul vaccin où dans un cas, WILKINS 1971 (133), la virémie a pu être mise en évidence. Le sujet vacciné est habituellement non contagieux pour l'entourage, mais WILKINS 1971 (148) a décrit 2 cas de transmission à des sujets séronégatifs. Les anticorps apparaissent vers le 10ème jour et sont maximum vers le 60ème jour. Pour les souches HPV 77, HPV 77 DK 12, HPV 77 DE 5, les plus utilisées, le pourcentage de séroconversion est de 95 % à 100 %. Par contre, HPV 150 CE 10 et BENOIT E sont très peu efficaces puisque leur pourcentage de séroconversion est respectivement de 75 % et 38 %.

b) la souche CENDEHILL : (PEETERMANS, HUYGELEN - 1967 (15)

Ce type de vaccin est commercialisé en France ⁺.

Le virus provient d'un sujet présentant une rubéole naturelle et a été atténué par 51 passages sur cellules primaires de lapin domestique. Comme le précédent ce vaccin n'est utilisable que par voie sous-cutanée. Une dose orale de 10 000 DICT 50 n'entraîne de séroconversion que dans 6 % des cas.

La vaccination n'entraîne pas de rubéole clinique. Le virus est retrouvé dans la gorge du 10 au 14ème jour, aucune virémie n'a été mise en évidence. Au 20ème jour le pourcentage de séroconversion est de plus de 96 % lorsque celle-ci est appréciée par l'ascension du titre des anticorps inhibant l'hémagglutination. Les anticorps fixant le complément n'apparaissent pas ou restent à des taux faibles, les précipitines anti-theta s'élèvent, les précipitines anti-iota ne s'élèvent pas, HORSTMANN 1970 (45). Le vaccin n'est pas contagieux pour l'entourage. S.B. HALSTEAD, a vacciné la femme dans 15 couples non immunisés et aucun des maris n'a présenté de séroconversion malgré un contact particulièrement rapproché.

c) la souche PLOTKIN RA 27/3 :

Le virus provient d'un rein (3ème explant) du 27ème foetus d'une série d'avortements pour rubéole maternelle au début de la grossesse, atténué par 25 passages à des températures allant de 30°C à 35°C sur des cultures diploïdes de fibroblastes humains. Ce vaccin

+ ERVEVAX des Lab. Mérieux.

est commercialisé en France ⁺. Il ne provoque pas de rubéole clinique. Le virus est retrouvé dans la gorge du 7ème au 14ème jour, quelle que soit la voie d'administration. Ce vaccin présente en effet la particularité d'être utilisable aussi bien par voie nasale que par voie sous-cutanée. Dans le premier cas le pourcentage de séroconversion est de 92 %, dans le deuxième de 100 %. Aucune virémie, ni contagiosité n'ont été montrées.

OGRA 1971 (67), a montré qu'après vaccination par voie nasale avec cette souche les anticorps de la fraction IgA apparaissent dans les sécrétions nasopharyngées alors que ces anticorps n'apparaissent pas après vaccination par voie sous cutanée avec la souche HPV 77. Après vaccination par la souche RA 27/3 par voie sous cutanée on ne sait pas de façon certaine si les anticorps de la fraction IgA apparaissent dans les sécrétions nasopharyngées.

III - LES REACTIONS CLINIQUES APRES VACCINATION

Elles sont peu fréquentes et peu intenses chez l'enfant, plus fréquentes chez l'adulte. Elles disparaissent toujours en quelques jours sans séquelles. Ces réactions sont variées :

- fièvre légère, au-dessous de 37°9
- signes rhino-pharyngés
- adénopathies occipitales sensibles
- éruption rubéoliforme ou non
- surtout atteinte articulaire chez les femmes adultes. Il s'agit en général d'arthralgies légères, durant 1 à 5 jours qui disparaissent ensuite sans séquelle. Elles atteignent surtout les articulations interphalangiennes proximales et métacarpophalangiennes. Parfois de grosses articulations sont atteintes (cheville, genou, rachis, poignet). L'atteinte du poignet peut se traduire par un syndrome du canal carpien avec paresthésie par compression du médian due à l'atteinte synoviale. Les atteintes articulaires représentent un inconvénient notable de la vaccination. Leur fréquence semble être fonction du type de vaccin :

HPV 77	40 % d'arthralgie
RA 27/3	10 %
CENDEHILL	1 à 2 % d'après ZOURBAS

+ RUDIVAX des Lab. MERIEUX

Cette inégale fréquence suggère une différence d'atténuation des vaccins, la souche CENDEHILL étant la plus atténuée, la souche HPV 77 la moins atténuée. Certains ont émis l'hypothèse que la souche la plus atténuée sera peut-être celle qui aura perdu le pouvoir tératogène du virus rubéoleux.

Etude en double aveugle des complications de la vaccination par la souche CENDEHILL de femmes adultes,
FERLAUTO 1973 (34 p. 117)

	VACCIN				PLACEBO			
	Séronégatives (115)		Séropositiv. (113)		Séronégat. (106)		Séroposit. (125)	
- Arthralgie	9	7,8%	5	4,4%	4	3,8%	5	4,0%
- Arthrite	2	1,7%	1	0,9%	1	0,9%	0	
- Adénopathie	38	33,0%	15	13,3%	13	12,3%	11	8,8%
- Elevation thermique	8	7,0%	12	10,6%	8	7,6%	8	6,4%
- Eruption	10	8,7%	7	6,2%	2	1,9%	10	8,0%
- Réaction locale	4	3,5%	3	2,7%	1	0,9%	2	1,6%
- Myalgie	6	5,2%	7	6,2%	1	0,9%	1	0,8%
- Signes rhino-pharyngés	27	23,5%	36	31,9%	23	21,7%	16	12,8%
- Divers : céphalée, vertiges, troubles des règles	12	10,4%	8	7,1%	6	5,7%	8	6,4%

Réactions secondaires chez des femmes vaccinées par RA 27/3
(PLOTKIN 1971 - 168).

Adhénopathies	21/107	20 %
Eruption rubéoliforme	11/107	10,3%
Fièvre	4/107	3,7%
Arthralgie	9/107	8,4%
Arthrite	0	

IV - LA VACCINATION PENDANT LA GROSSESSE

Elle est formellement contre-indiquée. Pour mieux connaître le comportement du virus atténué et les réactions de la femme enceinte au vaccin, certains auteurs ont vacciné des femmes enceintes dont la grossesse devait être interrompue prématurément pour des raisons médicales. Il est également arrivé que des femmes dont la grossesse était méconnue soient vaccinées et accouchent à terme.

Expérimentalement, l'étude la plus importante est celle de VESIKARI, VAHERI 1972(149). Des femmes séronégatives (24) et des femmes ayant un titre d'anticorps inhibant l'hémagglutination allant de 1/10 à 1/80 (11) ont été vaccinées par les souches HPV77 DK 12 (29) et HPV 77 DE 5 (6) après une période d'aménorrhée de 49 à 107 jours. La grossesse a été interrompue 11 à 30 jours après la vaccination. Il a été montré qu'après vaccination le virus atténué est isolé dans 5 % des prélèvements faits au niveau du col utérin et dans 25 % des placentas des femmes séronégatives avant vaccination. Le virus atténué a été isolé 2 fois dans l'appendice de femmes antérieurement non immunisées. La recherche du virus au niveau du fœtus n'a été positive qu'une seule fois, dans le rein.

FURUKAWA ne retrouve le virus chez aucune des 5 femmes enceintes vaccinées par la souche CENDEHILL ni chez 10 femmes vaccinées par la souche RA 27/3, dans les débris placentaires après interruption de la grossesse, 1969 (150)

LARSON, 1971 (151), avec HPV 77 DK 12 et HPV 77 DE 5 met en évidence 3 fois sur 9 des lésions histologiques placentaires semblables à celles décrites par S. DRISCOLL en cas de rubéole naturelle et sur ces 3 cas le virus est isolé 2 fois dans le placenta.

BOLOGNESE 1972 (152), chez 8 femmes enceintes vaccinées par la souche CENDEHILL et séronégatives avant la vaccination ne retrouve jamais le virus. Si les résultats de FURUKAWA et BOLOGNESE étaient confirmés, il serait légitime de préférer cette souche pour la vaccination.

FLEET (cité par WYLL et HERMANN - 1973 (153) a retrouvé au niveau de l'oeil d'un fœtus dont la mère avait été vaccinée, des lésions histologiques qu'il est habituel de considérer comme typiques de rubéole congénitale.

Enfin, des enfants sont nés de mères vaccinées pendant la grossesse. CHIN 1971 (154), 4 enfants apparemment normaux dont les mères avaient été vaccinées aux jours -23, +43, +81, +88 par rapport aux dernières règles.

S.A. WYLL et HERMANN 1973 (153), ont publié une étude portant sur 215 grossesses qui sont allées à terme après vaccination pendant la grossesse. Aucune anomalie imputable au virus atténué n'a été retrouvée. Mais le délai d'observation des enfants n'est pas encore suffisant.

La grossesse reste la grande contre-indication de la vaccination, car on ne peut exclure une action tératogène du virus atténué se multipliant sur des cellules embryonnaires. D'ailleurs les autres vaccins à virus vivant sont également contre-indiqués pendant la grossesse. De plus il ne faut pas oublier que 2% des enfants sont malformés sans qu'on en connaisse la cause, et en cas de malformation le vaccin pourrait en être rendu responsable par les femmes.

V - DU POINT DE VUE PRATIQUE

Deux types de vaccin sont utilisés en France :

- Souche WISTAR RA 27/3, présenté sous forme lyophilisée et contenant 1000 DICT 50 de virus atténué⁺
 - Souche CENDEHILL, même présentation contenant 1000 DICT 50 de virus⁺⁺
- Le vaccin conservé à 4°C est préparé extemporanément avant l'injection qui se fait par voie sous cutanée dans la fosse sus-épineuse.

Les contre-indications :

- . la grossesse, elle doit être éliminée cliniquement et biologiquement si nécessaire
- . les maladies fébriles
- . les maladies malignes
- . la corticothérapie
- . les traitements immunodépresseurs
- . lorsque des gammaglobulines ont été injectées, la vaccination est reportée de 6 semaines.

+ RUDIVAX des Lab. MERIEUX

++ ERVEVAX des Lab. MERIEUX

les indications :

Il n'existe pas à l'heure actuelle de plan de vaccination en France. Doivent être vaccinées les femmes séronégatives (titre des anticorps inhibant l'hémagglutination inférieur à 1/10) et celles qui ont un titre d'anticorps de 1/10 et 1/20, d'une part pour tenter de relancer l'immunité et d'autre part parce qu'il peut s'agir de fausses réactions positives dues à des inhibiteurs non spécifiques de l'hémagglutination. Il est donc nécessaire de pratiquer un séro-diagnostic. La vaccination se fait sous contraception hormonale pendant 3 cycles. L'injection est faite après le premier cycle pour être certain que la femme prend correctement les comprimés. La nécessité de cette contraception limite la diffusion de la vaccination. A l'hôpital Lariboisière 60 % des refus de vaccination sont motivés par un refus de contraception. Certains, BOUE 1969 (155) ont proposé la vaccination dans le post partum immédiat, ce qui n'entrave pas l'allaitement maternel ; les nouveaux nés ne sont pas contaminés. VILLAREJOS 1973 (156) a ainsi vacciné, sans contraception 455 femmes dans le postpartum immédiat, sans qu'aucune de ces femmes ne devienne enceinte dans les 2 mois suivant la vaccination. Il n'en reste pas moins vrai que si la survenue d'une grossesse dans le post partum est rare, elle est cependant possible.

Une inconnue persiste, la durée de l'immunité vaccinale.

Pays	auteur Date	Examen des enfants	Intervalle concept/rubéo- le en semaines	Nombre grosses
AUSTRALIE	PITT 1949-1956	Naissance + 2 à 6 ans	0 - 12 13 et +	11 5
FRANCE	LAMY - SEROR 1953	de 2 à 22 mois	0 - 12 13 et +	40 8
U.S.A.	BRAWNER 1955	?	0 - 13 14 et +	15 7
	FOX - BORTIN 1942-1944	Naissance seulement	0 - 12 13 et +	8 3
	GREENBERG 1949-1955	Naissance + 1 an	0 - 13 14 et +	45 116
	INGALLS - PURSHOTTAM 1952-1953	Naissance seulement	0 - 13 14 et +	13 6
	INGALLS 1957	?	0 - 13 14 et +	10 1
	LOCK 1958	Naissance + 1 an	0 - 13 14 et +	50 46
	MICHAELS-MELLIN 1949-1959	Naissance + 6-12 mois	0 - 12 13 et +	13 12
	SEVER 1964	1er mois	0 - 13 14 et +	44 77
GRANDE - BRETAGNE	BROWN-NATHAN 1952-1953	Naissance + période néo- natale	0 - 12 13 et +	14 12
	HILL 1949-1953	Naissance + 3 ans	0 - 13 14 et +	18 20
	MINISTER of HEALTH 1950-1952	Naissance + 1 an et 2 ans qqsuns à 4 ans	0 - 12 13 et +	202 372
	Total des 13 statistiques		0 - 12 (13) 13-14 et +	483 685
	Total des 12 premières		0 - 12 (13) 13-14 et +	281 313
	Minister of Health		0 - 12 13 et +	202 372

Portement ontané	Mort foetale	Nbre d'enfants avec anomalies/Nbre d'en- fants nés vivants	% d'anomalies/ Nbre de grossesses	
?	?	3/11	3/11	27%
?	?	0/5	0/5	0%
5	2	20/33	27/40	67%
1	0	3/7	4/8	50%
0	1	4/14	5/15	33%
0	0	0/7	0/7	0%
0	1	0/7	1/8	12%
0	0	0/3	0/3	0%
12	3	2/30	17/45	38%
1	3	1/112	5/116	4%
?	0	1/13	1/13	7%
?	1	1/5	2/6	33%
?	0	2/10	2/10	20%
?	0	0/1	0/1	0%
11	0	12/39	23/50	46%
0	0	2/46	2/46	4%
4	0	3/9	7/13	54%
0	0	0/12	0/12	0%
0	1	6/43	7/44	15%
0	1	2/76	3/77	4%
2	0	4/12	6/14	43%
0	1	0/11	1/12	9%
?	0	4/18	4/18	22%
?	2	1/18	3/20	15%
10	9	57/183	76/202	37,6%
1	11	17/360	29/372	7,8%
44	17	118/422	179/483	37%
3	19	27/663	49/685	7,1%
34	8	61/239	103/281	36,6%
2	8	10/303	20/313	6,4%
10	9	57/183	76/202	37,6%
1	11	17/360	29/372	7,8%

D'après COCKBURN, 1969, (158).

CONDUITE A TENIR CHEZ UNE FEMME ENCEINTE AYANT EU UN CONTACT RUBEOLEUX OU PRESENTANT UNE RUBEOLE.

Nous envisagerons dans ce chapitre

- l'étude statistique du risque pour le fœtus de la rubéole maternelle
- les tentatives de prophylaxie passive par les gammaglobulines
- l'interruption de la grossesse.

I - ETUDE STATISTIQUE DU RISQUE FOETAL :

Comme il n'existe aucun moyen clinique ou paraclinique de prévoir quel sera l'état du nouveau né à la naissance, on est obligé d'évaluer ce risque statistiquement. Aussi est-il important de souligner d'emblée que cette évaluation n'a qu'une valeur d'orientation et que chaque cas reste un cas particulier.

Deux types d'enquête ont été réalisées pour apprécier ce risque :

- les premières rétrospectives, mais il a été montré que leurs résultats sont peu significatifs, PITT 1957 (157)
- les suivantes, prospectives, sont plus intéressantes ; malheureusement de nombreuses raisons font que leurs résultats sont souvent imprécis.

Pour qu'une telle étude prospective soit valable plusieurs conditions doivent être réunies:

- . Le diagnostic de rubéole doit être fait par un médecin et confirmé par le laboratoire. Toutes les études antérieures à 1962 perdent ainsi une partie de leur valeur.
- . le déroulement de la grossesse doit être minutieusement étudié, le terme connu précisément.
- . le nouveau-né doit être examiné jusqu'à l'âge de 4 ans car on sait la fréquence des anomalies révélées tardivement.
- . les résultats de l'étude doivent être comparés à des populations témoins sans rubéole, de même âge, de milieu socio-économique identique, de terme de grossesse semblable...

. la répartition du nombre des rubéoles doit être à peu près identique pour chaque trimestre de grossesse.

Pratiquement, aucune des statistiques ne réunit tous ces critères.

1/ les statistiques rétrospectives : On en retiendra simplement qu'elles étaient erronées puisque le risque était évalué à 100 % pour une rubéole du premier mois et à 75 % pour une rubéole du premier trimestre, DUDGEON (75). Ces chiffres sont actuellement considérés comme beaucoup trop élevés.

2/ les statistiques prospectives :

En 1969 W.C. COCKBURN (158) a réuni treize statistiques prospectives. L'une d'entre elles établie par le ministère de la santé de Grande Bretagne regroupe autant de cas que les 12 autres. SEVER a étudié l'effet de la rubéole chez un peu plus de 6000 femmes enceintes lors de l'épidémie de 1964, (159). Plusieurs faits ressortent de ces études.

a) le risque est fonction de la date de survenue de la rubéole par rapport au terme de la grossesse :

- rubéole préconceptionnelle : il existe un risque lorsque la rubéole survient dans les 4 semaines précédant la conception, évalué à 10-20%. Sur 7 cas de rubéole préconceptionnelle, SEVER 1969 (159), 3 enfants sont normaux, 1 avortement spontané, 1 mort-né, 1 rubéole congénitale et 1 enfant présentant de nombreuses infections au cours de la première année.

- rubéole du premier trimestre : C'est là que le risque est le plus grand. Les 13 statistiques précédemment citées l'estime à 37 %.

Pour SEVER 1971 (160) le risque est de

40 % rubéole de 1 à 4 semaines de grossesse

22 % 5 à 8

10 % 9 à 12

- rubéole du deuxième trimestre : le risque n'est pas nul et est estimé à 7-8 %. HARDY 1969 (161), a étudié les conséquences d'une rubéole survenant entre 13 et 27 semaines de grossesse chez 22 femmes et à 31 semaines chez 2 femmes. 22 enfants sont nés vivants 1 avortement thérapeutique, une mort foetale in utero à 28 semaines après une rubéole à 20 semaines. Seuls 7 enfants peuvent être considérés comme entièrement normaux. Les 15 autres présentent des anomalies en général mineures :

- . persistance des anticorps rubéoleux plus de 6 mois après la naissance (10)
- . taux des IgM supérieur à 20 mg/100 ml (6)
- . poids inférieur au troisième percentile entre 1 et 3 ans (4).
- . périmètre crânien inférieur au troisième percentile (8)
- . diminution de l'acuité auditive (6)
- . retard de langage (2) dont un ne parle pas à 3 ans.
- . retard moteur et/ou mental léger (7)
- . 2 cas de sténose pulmonaire périphérique probable
- . le virus rubéoleux a été retrouvé dans la gorge de certains enfants (rubéole à 19 et 26 semaines) ou dans le placenta (rubéole à 13, 15, 19 semaines). Il est donc impossible de considérer la rubéole du 2ème trimestre comme sans conséquence.

b) le risque existe même lorsque la rubéole est inapparente, c'est à dire sans éruption, les adénopathies pouvant exister. Certains ont pensé que dans ce cas le risque était plus faible. SEVER 1965 (162) lorsqu'il a étudié l'épidémie de rubéole dans les îles Pribilofs (Alaska) a constaté, qu'en l'absence d'éruption, l'isolement du virus dans les sécrétions nasopharyngées nécessitait plusieurs passages en culture et était positif pendant 4 jours, alors qu'en cas d'éruption l'isolement du virus nécessitait un seul passage et restait positif pendant 9 jours. Ceci suggère que la rubéole sans éruption est une forme moins sévère de la maladie avec une virémie moins intense. Le retentissement d'une rubéole inapparente est difficile à apprécier parce qu'il est difficile d'affirmer que l'éruption n'est pas simplement passée inaperçue en particulier lorsqu'il s'agit de femmes noires dans les statistiques américaines. Peut-être le risque est-il plus faible. Mais ce qui est certain, c'est que des enfants sont nés, présentant une rubéole congénitale avec malformations, de femmes ayant présenté une séroconversion sans éruption pendant la grossesse. AVERY 1965 (163), en a décrit 7 cas dont 3 chez des enfants blancs. SEVER 1965 (21) sur 615 femmes exposées à la rubéole lors du premier trimestre retrouve 4 cas de rubéole congénitale et 8 cas suspects de rubéole congénitale.

KARMODY (cité par MONNET - 49) a examiné 87 enfants de 4 ans atteints de surdité et nés l'année de survenue d'une épidémie de rubéole. Pour 20 des enfants il a retrouvé une notion de rubéole maternelle, pour les 67 enfants restant aucune notion de rubéole n'a été retrouvée. Des tests sérologiques pratiqués sur 30 de ces 67 enfants étaient positifs dans 74 % des cas alors que des enfants témoins nés la même année n'avaient d'anticorps que dans 30 % des cas. On peut conclure que même si le risque est plus faible, il existe indiscutablement.

II - PROPHYLAXIE PASSIVE : LES GAMMAGLOBULINES

Les premières tentatives de prophylaxie passive par les gammaglobulines remontent à 1949. Le but des gammaglobulines est de prévenir les effets tératogènes de la rubéole pendant la grossesse. Leur efficacité est très controversée et les nombreuses études donnent des résultats contradictoires. En effet ces résultats sont fonction de nombreux paramètres :

- . le titre des anticorps rubéoleux des différentes préparations est variable
- . la nature des anticorps (ceux de la fraction des IgM ont un pouvoir neutralisant plus élevé que ceux de la fraction des IgG)
- . la dose des gammaglobulines injectées
- . l'état immunitaire de la femme ; l'injection de gammaglobulines à une femme déjà immunisée fausse les statistiques.
- . surtout le moment de l'injection par rapport à la date du contagement. Pendant longtemps l'efficacité des gammaglobulines a été jugée sur 2 critères :
 - la survenue ou non de l'éruption, dont on sait aujourd'hui qu'elle ne résume pas la maladie
 - la présence de malformations à la naissance mais on sait de nos jours que des enfants apparemment normaux à la naissance peuvent avoir une rubéole congénitale.

GREEN 1965 (22), a étudié expérimentalement l'efficacité des gammaglobulines chez des enfants séronégatifs, inoculés par le virus rubéoleux par voie IM ou par spray pharyngé. Les gammaglobulines avaient un titre en anticorps neutralisant de 1/64 et étaient injectées 24 heures avant ou 72 heures après l'inoculation, à des doses allant de 0,12 à 0,2 ml/453 g. Les résultats furent décevants. Au

mieux la rubéole semblait moins sévère. Mais il faut ici différencier l'usage des gammaglobulines dans le cas de la rougeole ou l'hépatite pour lesquelles le but est d'atténuer la maladie et l'usage des gammaglobulines pour la rubéole où le but est de prévenir l'atteinte foetale. Celle-ci est probablement due à la virémie qui existe pendant la semaine précédant l'éruption. Les travaux de SCHIFF sont tout différents, 1969 (164). En utilisant des gammaglobulines de haut titre (anticorps neutralisant 4096/0,1 ml) à la dose de 20 ml, SCHIFF a montré que l'inoculation pharyngée de volontaires adultes non immunisés par une souche virale virulente était inefficace lorsque les gammaglobulines étaient injectées 24 heures après l'inoculation. Sur 5 sujets inoculés aucun n'a présenté de rubéole clinique, aucun n'a présenté de séroconversion ; le virus n'a jamais été isolé du sang ou des sécrétions nasopharyngées. Si le titre des gammaglobulines est de 256/0,1 ml en anticorps neutralisant, sur 6 sujets 4 font la maladie. L'importance du titre des anticorps apparaît donc nettement. En pratique le respect des conditions optimales d'utilisation est difficile ou impossible:

- . la précocité de l'injection : le cas idéal de la femme séronégative ayant eu un seul contact et consultant immédiatement est rare. Le plus souvent la femme ne consulte que lorsqu'apparaît l'éruption du sujet contamineur, c'est à dire lorsqu'elle est peut-être au 7ème jour d'incubation.
- . Le titre des gammaglobulines utilisées, du commerce est suffisamment élevé. Il existe des gammaglobulines standard et des gammaglobulines spéciales rubéole du Centre National de Transfusion Sanguine. AUROUSSEAU et MAURIN 1973 (165) ont montré que l'utilisation des gammaglobulines standard⁺ titrant 15 000 unités anti-hémagglutinantes chez des femmes séronégatives entraîne l'apparition dans le sérum d'anticorps vers le 5ème jour. Leur titre reste supérieur à 20 unités anti-hémagglutinantes pendant environ 3 semaines. Ces auteurs considèrent comme seuil de protection le titre de 20 U. anti-hémagglutinantes dans 0,2 ml dans la macrométhode qu'ils utilisent. Les doses à injecter pour obtenir ce titre sont élevées, de 32 à 50 ml pour des femmes de 48 à 59 kg.

+ DIAMMAGLOBULINES des Lab. Diamant.

Une objection a été faite à l'utilisation des gammaglobulines. Elles modifient les résultats de la sérologie et rendent difficile le diagnostic sérologique d'une infection inapparente. Bien que SCHIFF 1969 (164), n'ait pas constaté de modification de la sérologie après gammaglobulines, d'autres comme AUROUSSEAU avec des doses très importantes ou les médecins du Working Party of the British Public Health Service avec 18 ml de gammaglobulines à 16,5 % (3000 mg) mettent en évidence des anticorps inhibant l'hémagglutination pendant environ 3 semaines.

Résultats de la prophylaxie par les gammaglobulines :

Il n'existe pas à notre connaissance de statistiques permettant d'affirmer ou d'infirmer l'efficacité ou l'inefficacité des gammaglobulines.

Nous ne retiendrons qu'une statistique, MAC CALLIN 1972 (166), comportant 47 femmes séronégatives exposées à la rubéole pendant les 8 premières semaines de la grossesse et ayant reçu 20 ml de gammaglobulines de titre connu à une date non précisée après le contact.

Titre des gamma globulines	Nombre de femmes séronégatives	Nombre de séro conversion	% de séroconversion
HI titre 512	20	2	10 %
HI titre 64	21	3	14,3 %
pas de gamma-globulines	7	1	14,3 %

Parmi les 5 femmes recevant des gammaglobulines et qui ont fait une séroconversion il y a eu :

- 1 mort né et 4 enfants nés vivants
- 4 enfants nés vivants et suivis de 6 mois à 3 ans
 - . 2 normaux
 - . 1 présentant une hernie bilatérale
 - . 1 présentant une torsion tibiale.

La femme qui n'a pas reçu de gammaglobulines et qui a fait une séro-conversion a eu un enfant suspect de surdité.

Cette statistique regroupe seulement un petit nombre de cas et ne permet pas de conclure.

L'American College of Obstetricians and Gynecologists estime que les gammaglobulines sont inefficaces et conseille l'avortement "thérapeutique".

III - L'AVORTEMENT "THERAPEUTIQUE"

La législation française en matière d'avortement n'autorise pas l'interruption de la grossesse car la vie de la mère n'est pas menacée. L'avortement pour rubéole maternelle est pratiqué dans de nombreux pays. La décision revient à la femme qui doit être éclairée sur les conséquences possibles de la rubéole. Il n'existe pas de moyen permettant de savoir si le fœtus sera ou non atteint, si l'atteinte sera sévère ou compatible avec un développement ultérieur satisfaisant. Ni l'amniocentèse et la recherche du virus dans le liquide amniotique ou la biopsie placentaire, technique délicate, et la recherche de lésions histologiques placentaires ne permettent de conclusions certaines. Si bien que la décision d'une interruption de la grossesse est prise sur 2 critères :

- la date de la rubéole par rapport aux dernières règles normales
- les résultats des examens de laboratoire, c'est assez dire leur importance.

Le fractionnement des immunoglobulines est indispensable avant d'envisager une interruption de la grossesse car :

- . Une augmentation significative du titre des anticorps peut être due à une réinfection qui ne présente probablement pas de risque pour le fœtus
- . de toutes façons le diagnostic a des conséquences si graves que celui-ci doit être assuré de manière certaine.

L'évacuation de l'utérus est en général pratiquée pour des rubéoles de primo-infection survenue pendant la période préconceptionnelle et jusqu'au terme de 15 semaines. Du point de vue des méthodes utilisées l'évacuation de l'utérus ne présente pas de particularité. En général l'évacuation se fait par voie basse, curetage ou aspiration jusqu'à 12 semaines, ensuite il faut recourir à l'injection de solutés

hypertoniques (sérum salé ou glucosé) dans la cavité utérine, voire à l'hystérotomie. Les risques d'une telle interruption de grossesse ne sont pas nuls. La mortalité est de : jusqu'à 12 semaines :

1/10 000 (Angleterre), 0,2/10 000 (New York)

à 13 semaines et plus : 3,1/10 000 (Angleterre), 1,7/10 000 (New York), (167).

Il existe également une morbidité plus importante que la mortalité. Nous avons vu qu'en cas de rubéole tardive il est intéressant de demander immédiatement un fractionnement des immunoglobulines dont le résultat rapide évite parfois d'avoir à intervenir après 12 semaines.

- C O N C L U S I O N -

De ce rapide résumé des connaissances actuelles sur les problèmes posés par la survenue d'une rubéole chez la femme enceinte, on peut dégager, pour conclure, certains points très importants, qui doivent guider l'attitude du médecin.

La rubéole n'est grave que lorsqu'elle survient pendant la grossesse, son diagnostic clinique est possible mais seule la sérologie permet de l'affirmer. Ce diagnostic sérologique et en particulier la réaction d'inhibition de l'hémagglutination doivent être pratiqués par des laboratoires qui en ont l'expérience. L'interprétation des résultats doit être rigoureuse et nécessite une connaissance des faits cliniques et du cycle de l'infection rubéolique. La conduite du médecin dépend entièrement de ces résultats. Dans les cas difficiles, le fractionnement des immunoglobulines, méthode complexe qui n'est pratiquée que par certains laboratoires spécialisés, présente un très grand intérêt. Cet examen doit toujours être pratiqué avant que ne soit décidée une interruption de grossesse, la sérologie habituelle amenant parfois à craindre un risque tératogène alors qu'il n'existe pas comme c'est le cas lors d'une réinfection.

Lorsque la rubéole survient chez une femme enceinte, pendant le premier trimestre ou même pendant le deuxième trimestre, elle entraîne une infection foetale chronique qui se prolonge bien après la naissance. Lorsque la grossesse se termine par la naissance d'un enfant vivant, celui-ci peut être porteur de malformations caractéristiques de la rubéole au niveau de l'oeil, de l'oreille interne, du coeur, associées ou non à une rubéole congénitale évolutive. D'autres enfants naissent apparemment sains, la rubéole congénitale apparaissant tardivement.

La rubéole congénitale est très grave par les séquelles qu'elle laisse, en particulier les séquelles neurologiques.

Lorsque la rubéole survient chez la femme enceinte, il est déjà trop tard. Il n'existe aucune thérapeutique. Le seul recours est alors l'interruption de la grossesse, aveugle, car il n'existe aucun moyen permettant de préjuger de la gravité de l'atteinte

foetale. L'importance de la prévention est donc extrême et c'est dans ce domaine que les progrès les plus importants ont été faits. La prévention n'est possible que par le dépistage systématique des femmes non immunisées en dehors de la grossesse et par leur vaccination. C'est le seul moyen que l'on possède actuellement d'éviter la naissance d'enfants présentant une rubéole congénitale dont on a vu la gravité.

B I B L I O G R A P H I E

Les références sont citées dans l'ordre d'introduction dans le texte.

- 1 - MATON W.G.
Some account of rash, liable to be mistaken for scarlatina.
M. TR. Roy. Coll. Physicians 5 : 149-165, 1815
- 2 - VEALE H.
History of an épidémie of Rötheln. With observations on its pathology.
Edin. Med. J. 12 : 404-414, 1866
- 3 - SQUIRE W.
On rubella, rubeola sine catarrho : Rötheln, or german measles.
Transactions of the international congress of medicine
4 : 27-31, 1881
- 4 - HIRO Y., TASAKA S.
Die Rötheln sind eine Viruskrankheit
Mschr. Kinderheilk. 76 : 328-332, 1938
- 5 - GREGG N.M.
Congenital cataract following german measles in the mother
Trans. Ophtal. Soc. Aust. 3 : 35-46, 1941
- 6 - SWAN C. and al.
Congenital defects in infants following infectious diseases during pregnancy, with special reference to relationship between german measles and cataracts, deaf-mutism, heart disease, and microcephaly, and to period of pregnancy in which occurrence of rubella is followed by congenital abnormalities.
Med. J. Aust. 2 : 201-210, 1943
- 7 - WESSELHOEFT C.
Rubella (german measles).
N. Eng. J. Med. 236 : 943-950, 1947

- 8 - ANDERSON S.G.
Experimental rubella in human volunteers.
J. Immun. 62 : 29-40, 1949
- 9 KRUGMAN S. et al.
Demonstration of rubella without rash.
JAMA 151 : 285-288, 1953
- 10 - WELLER T.H., NEVA F.A.
Propagation in tissue culture of cytopathic agents from patients with rubella-like illness.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 111 : 215-225, 1962
- 11 - PARKMAN P.D., BUESCHER R.L., ARTENSTEIN M.S.
Recovery of rubella virus from army recruits.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 111 : 225-230, 1962
- 12 - STEWART G.L. et al.
Rubella-virus hemagglutination-inhibition test.
N. Eng. J. Med. 276 : 554-557, 1967
- 13 - PARKMAN P.D. et al.
Attenuated rubella virus. I - development and laboratory characterization. N. Eng. J. Med. 275 : 569-574, 1966
- 14 - HILLEMANN M.R. et al.
Live attenuated rubella-virus vaccine.
N. Eng. J. Med. 279 : 300-303, 1968
- 15 - PEETERMANS J., HUYGELEN C.
Attenuation of rubella virus by serial passage in primary rabbit kidney cell cultures.
Arch. Ges. Virusforsch 21 : 133-143, 1967
- 16 - PLOTKIN S.A. et al.
A new attenuated rubella virus grown in human fibroblasts : evidence reduced nasopharyngeal excretion.
Amer. J. Epidem. 86 : 468-477, 1967

- 17 - BASTIN R.
Diagnostic clinique et biologique de la rubéole.
Rev. Prat. 21 : 707-714, n° 5, 1971
- 18 - FOURNIER A., PAULI A., DUCOULOMBIER H. et coll.
Encéphalite de la rubéole. A propos de 3 observations.
Pédiatrie 22 : 967-974, n° 8, 1967
- 19 - BLANCHER G., LEBON P., CORBIN R. et coll.
Encéphalite de la rubéole.
Ann. Med. Interne 120 : 575-577, n° 8-9, 1969
- 20 - VERGER P., GUILLARD J.M., SANDLER B. et coll.
Fréquence du purpura thrombopénique aigu de l'enfant consécutif à la rubéole.
Ann. Pediat. 17 : 31-36, n° 1, 1970
- 21 - SEVER J.L., NELSON Karin B., GILKESON Mary Ruth
Rubella epidemic, 1964 : Effect on 6,000 pregnancies.
Amer. J. Dis. Child. 110 : 395-407, 1965
- 22 - GREEN R.H., BALSAMO M.R., GILES J.P. and al.
Studies of the natural history and prevention of rubella.
Amer. J. Dis. Child. 110 : 348-365, 1965
- 23 - PARKMAN P.D., HOPPS H.E., MEYER H.M.
Procédés d'isolement du virus rubéoleux.
Revue de Medecine n° 22, 1375-1386, 1971
- 24 - HEGGIE A.D.
Pathogenesis of the rubella exanthem. Isolation of rubella virus from the skin.
N. Eng. J. Med. 285 : 664-666, 1971
- 25 - ZECHOVSKI Nicole
Sérologie de la rubéole par inhibition de l'hémagglutination.
Thèse Medecine Paris 1968

- 26 - VERONELLI J.A., MAASSAB H.F., HENNESSY A.V.
Isolation in tissue culture of an interfering agent from patients with rubella.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 111 : 472-476, 1962
- 27 - MCCARTHY K., TAYLOR-ROBINSON C.H., PILLINGER S.E.
Isolation of rubella virus from cases in Britain.
Lancet 2 : 593-598, 1963
- 28 - RAWLS W.E., DESMYTER J., MELNICK J.L.
Rubella virus neutralisation by plaque reduction.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 124 : 167-172, 1966
- 29 - SCHMIDT Nathalie J., LENNETTE E.H., DENNIS J.
A plaque assay for rubella virus based upon hemadsorption
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 132 : 128-133, 1969
- 30 - ALMEIDA June D., LAURENCE G.D.,
Heated and unheated antiserum on rubella virus. Morphological effect.
Amer. J. Dis. Child. 118 : 101-106, 1969
- 31 - ESTELA L.A.
Rubella virus : direct fluorescence.
Amer. J. Clin. Path. 47 : 129-133, 1967
- 32 - BROWN G.C., MAASSAB H.F., VERONELLI J.A. and al.
Rubella antibodies in human serum : detection by the indirect fluorescent-antibody technique.
Science 145 : 943-945, 1964
- 33 - SCHAEFFER M., ORSI E.V., WIDELOCK D.
Applications of immunofluorescence in public health virology.
Bacteriol. Rev. 28 : 402-408, 1964

- 34 - RUBELLA, First Annual Symposium of the Eastern Pennsylvania Branch American Society for Microbiology, edited by FRIEDMAN H. PRIER J.E., 1973, Charles C. THOMAS - PUBLISHER ISBN 0-398-02650-5
- 35 - SEVER J.L., HUEBNER R.J., CASTELLANO G.A. and al.
Rubella complement fixation test.
Science 148 : 385-387, 1965.
- 36 - SCHMIDT Nathalie J., LENNETTE E.H.
The complement-fixing antigen of rubella virus.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 121 : 243-250, 1966
- 37 - SCHMIDT Nathalie J., LENNETTE E.H.
Antigen of rubella virus.
Amer. J. Dis. Child. 118 : 89-93, 1969
- 38 - BOUE A.
Séro-diagnostic de la rubéole. Communication à l'Académie nationale de Médecine, Séance du 2 mai 1967.
C.R. Acad. Nat. Med. 131 : 266-269, 1967
- 39 - BOUE A., NICOLAS A., LANG R.
Sérologie de la rubéole
Ann. Inst. Pasteur 114 : 317-330, n° 3, 1968.
- 40 - FREYMUTH F., MOREL C.
Mise en évidence des IgM par filtration sur gel Séphadex G200. Application à la rubéole.
Ann. Biol. Clin. 30 : 579-583, 1972
- 41 - VAHERI A., VESIKARI T., PENTTINEN K. and al.
Soluble rubella antigens, platelet aggregation, and post-rubella thrombocytopenia. In international symposium on rubella vaccines,
Symp. Series Immunobiol. Stand., vol. 11, pp 107-108.
Basel/New-York, S. KARGER, 1969.

- 42 - PERLINO C.A., ISACSON P.,
Direct hemadsorption by cell cultures infected with rubella
virus. Amer. J. Dis. Child. 118 : 83-88, 1969.
- 43 - LEBOUVIER G.L.
Precipitinogens of rubella-virus-infected cells.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 130 : 51-54, 1969
- 44 - HALONEN P.
In discussion, International conférence on rubella immunization.
Amer. J. Dis. Child. 118 : 146, 1969.
- 45 - HORSTMANN Dorothy M., LIEBHABER H., LEBOUVIER G.L. and al.
Rubella : reinfection of vaccinated and naturally immune per-
sons exposed in an epidemic.
N. Eng. J. Med. 283 : 771-778, 1970.
- 46 - SEVER J.L., FUCILLO D.A., GITNICK G.L. and al.
Rubella antibody determinations.
Pediatrics 40 : 789-797, 1967
- 47 - DIEBEL R., COHEN S.M., DUCHARME C.P.
Serology of rubella. Virus neutralization, immunofluorescence
in BHK 21 cells and hemagglutination inhibition.
N.Y. State J. Med. 68 : 1355-1352, 1968.
- 48 - MEYER H.M., PARKMAN P.D., HOBBS T.E. and al.
Attenuated rubella virus. Laboratory and clinical characteristics
Amer. J. Dis Child. 118 : 155-165, 1969.
- 49 - MONNET P.
Rubéole congénitale.
Rev. Prat. 21 : 715-739, 1971
- 50 - FREYMUTH F., COQUEREL G., BARTHE M.L. et coll.
Aspects actuels de la rubéole : la réaction d'inhibition de
l'hémagglutination
Journal de médecine de CAEN 5 : 55-69, 1970. Journal de méde-
cine de CAEN 5 : 123-139, 1970.

- 51 - SEVER J.L. and al.
Rubella antibody among pregnant women in Hawai.
Amer. J. Obst. and Gynec. 92 : 1006, 1965.
- 52 - WITTE, J.J., KARCHMER A.W., CASE G. and al.
Epidemiology of rubella.
Amer. J. Dis. Child. 118 : 107-111, 1969;
- 53 - SVEDMYR A.
Acquisition and decline of rubella immunity.
Amer. J. Dis. Child. 118 : 137-138, 1969
- 54 - SVEHAG S.E.
Formation and dissociation of virus-antibody complexes with
special reference to the neutralization process.
Prog. Med. Virol. 10 : 1-63, 1968, Basel/New York, Karger.
- 55 - SCHLUEDERBERG Ann.
Immune globulins in human viral infections,
Nature, 205 : 1232, 1965
- 56 - BELLANTI J.A., ARTENSTEIN M.S., OLSON L.C. and al.
Congenital rubella.
Amer. J. Dis. Child. 110 : 464-472, 1965
- 57 - ALFORD C.A.
Studies on antibody in congenital rubella infections.
Amer. J. Dis. Child. 110 : 455-463, 1965
- 58 - BANATVALA J.E., BEST Jennifer M., KENNEDY Elizabeth A. and al.
A serological method for demonstrating recent infection by
rubella virus.
Brit. Med. J. 3 : 285-286, 1967.
- 59 - BEST Jennifer M., BANATVALA J.E.
Serum IgM and IgG responses in post natally acquired rubella.
Lancet pp 65-68, 12.7.1969

- 60 - BAUBLIS, J.V., BROWN G.C.
Specific response of the immunoglobulins to rubella infection.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 128 : 206, 1968
- 61 - COHEN S.M., DUCHARME C.P., CARPENTIER C.A. and al.
Rubella antibody in IgG and IgM immunoglobulins detected by immunofluorescence
J. of Lab. and Clin. Med. 72 : 760, 1968.
- 62 - HAIRE Margaret, HADDEN Diana S.M.
Immunoglobulin responses in rubella and its complications
Brit. Med. J. 3 : 130-132, 1970.
- 63 - CRADOCK-WATSON J.E., BOURNE M.S., VANDERVELDE Elise M.
IgG, IgA and IgM responses in acute rubella determined by the immunofluorescent technique.
J. Hyg. Camb. 70 : 473-485, 1972.
- 64 - VESIKARI T., VAHERI A.
Rubella : a method for rapid diagnosis of a recent infection by demonstration of the IgM antibodies.
Brit. Med. J. 1 : 221-223, 1968.
- 65 - BOUE A.
Reinfections rubéoliques.
Presse Médicale 79 : 1591-1594, 1971.
- 66 - MAURIN J.
Importance de la séparation des immunoglobulines G et M dans la rubéole. Résultats obtenus après ultracentrifugation.
Med. et Mal. Infect. 3 : 329-334, 1973
- 67 - OGRA P.L., KERR-GRANT D., UMANA G. and al.
Antibody response in serum and nasopharynx after naturally acquired and vaccine-induced infection with rubella virus.
N. Eng. J. Med. 285 : 1333-1339, 1971.

- 68 - GUPTA J.D., PETERSON V., STOUT Marilyn and al.
Single-sample diagnosis of recent rubella by fractionation of antibody on sephadex G200 column.
J; Clin. Path. 24 : 547-550, 1971.
- 69 - FREYMUTH F., MOREL C.
Sérologie rubéolique chez la femme enceinte : apport des méthodes complémentaires de fixation du complément et de séparation des immunoglobulines par gel filtration sur Séphadex G200.
Med. et Mal. Infect. 3 : 75-80, 1973.
- 70 - FREYMUTH F.
Sérologie rubéolique chez la femme enceinte.
Ouest médical, 26 : 2447-2457, 1973
- 71 - BURGİN-WOLFF Anne Marie, HERNANDEZ Rosemarie, JUST M.
Séparation of rubella IgM, IgA and IgG antibodies by gel filtration on agarose.
Lancet, pp. 1278-1280, 21.12.1971.
- 72 - DROPSY G., CARQUIN J., CROIX J.C.
Technique de mise en évidence des anticorps de type IgM dans les infections congénitales.
Ann. Biol. Clin. 29 : 67-73, 1971.
- 73 - DESMYTER J., SOUTH Mary Ann, RAWLS W.E.
The IgM antibody response in rubella during pregnancy.
J. Med. Microbiol. 4 : 107-114, 1971.
- 74 - BANATVALA J.E.
In discussion, International conference on rubella immunization.
Amer. J. Dis. Child. 118 : 66, 1969.
- 75 - DUDGEON J.A.
Congenital rubella. Pathogenesis and immunology.
Amer. J. Dis. Child. 118 : 35-44, 1969.

- 76 - CATALANO L.W., SEVER J.L.
The role of viruses as causes of congenital defects.
Annual review of microbiology, 25 : 255-282, 1971.
- 77 INTRA UTERINE INFECTIOUS
Ciba Foundation Symposium 10 (new series), 1973, Elsevier.
Excerpta Medica. North-Holland, ISBN Excerpta Medica 90 219
4011 6, ISBN American Elsevier 0-444-10415-1.
- 78 - SEPPÄLÄ M., VAHERI A., VESIKARI T.
Isolation of rubella virus from uterine cervix.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 25 : Suppl 113 : 106, 1970.
- 79 - SELZER G.
Virus isolation, inclusions bodies and chromosomes in a rubella-
infected human embryo.
Lancet 2 : 336-337, 1963.
- 80 - ALFORD C.A. Jr., NEVA F.A., WELLER T.H.
Virologic and serologic studies on human products of concep-
tion after maternal rubella.
N. Eng. J. Med. 271 : 1275-1281, 1964.
- 81 - HORSTMANN Dorothy M., BANATVALA J.E., RIORDAN J.T. and al.
Maternal rubella syndrome in infants.
Amer. J. Dis. Child. 110 : 408-415, 1965.
- 82 - MONIF G.R., SEVER J.L., SCHIFF G.M. and al.
Isolation of rubella virus from products of conception.
Amer. J. Obst. and Gynec. 91 : 1143-1146, 1965.
- 83 - RAWLS W.E.
Congenital rubella : the significance of virus persistence.
Progr. Med. Virol. 10 : 238-285, 1968, Basel/New York, S. Karger
- 84 - THOMPSON K.M., TOBIN J.O'H
Isolation of rubella virus from abortion material.
Brit. Med. J. 2 : 264-266, 1970.

- 85 - TÖNDURY G., SMITH D.W.
Foetal rubella pathology
The journal of Pediatrics, 68 : 867-879; 1966.
- 86 - DRISCOLL Shirley G.
Histopathology of gestional rubella
Amer. J. Dis. Child. 118 : 49-53, 1969.
- 87 - ORNOY A., SEGAL S., NISHMI M. and al.
Foetal and placental pathology in gestational rubella.
Amer. J. Obst. and Gynec. 116 : 949-956, 1973.
- 88 - BLANC W.,
in discussion, International conference on rubella immunization.
Amer. J. Dis. Child. 118 : 67, 1969.
- 89 - WOODS W. and al.
Immunofluorescent studies on rubella infected tissue cultures
and human tissues.
J. Immunol. 96 : 253-260, 1966.
- 90 - PLOTKIN S.A., VAHERI A.
Human fibroblasts infected with rubella virus produce a growth
inhibitor.
Science 156 : 659-661, 1967.
- 91 - BOUE A, BOUE J.G.
Effects of rubella virus infection on the division of human
cells.
Amer. J. Dis. Child. 118 : 45-48, 1969.
- 92 - NAEYE R.L., BLANC W.
Pathogenesis of congenital rubella.
JAMA 194 : 1277-1283, 1965.
- 93 - PLOTKIN S.A., KLAUS R.M., WITHELY J.P.
Hypogammaglobulinemia in an enfant with congenital rubella
syndrom : failure of L. Adamantanamine to stop virus excretion.
J. Pediat. 69 : 1085-1091, 1966.

- 94 - BRIDGE, R.A., CONDIE R.M., ZAK S.J. and al.
The morphological basis of antibody formation development during the neonatal period.
J. Mab. and Clin. Med. 53 : 331, 1959.
- 95 - EICHWALD H.F., SHINEFIELD H.R.
Antibody production by the human foetus.
J. Ped. 63 : 870, 1963.
- 96 - MARTENSSON L., FUDENBERG H.H.
Gm genes and GammaC globulin synthesis in the human foetus.
J. Immunol. 94 : 514, 1965.
- 97 - SILVERSTEIN A.M.
Congenital syphilis and the timing of immunogenesis in the human foetus. Nature 194 : 196, 1962.
- 98 - VAN FURTH R., SCHUIT H.R.E., HIJMANS N.
The immunological development of the human foetus.
J. Exp. Med. 122 : 1173, 1965.
- 99 - MATSEN J.M., HEIMLICH E.M., BUSSE R.J.
Foetal immunoglobulins : immunofluorescent identification and localisation in bone marrow.
Ann. Allerg. 25 : 607, 1967.
- 100 - BERG T., NILSSON B.A.
The foetal development of serum levels of IgG and IgM.
Acta Paediat. Scand. 58 : 577, 1969.
- 101 - DENT P.B., RAWLS W.E., OLSON G.B. and al.
Rubella virus-leucocyte interaction and its role in the pathogenesis of the congenital rubella syndrome.
Lancet 1 : 291-293, 1968.
- 102 - OLSON G.B., SOUTH Mary Ann, GOOD R.A.
PHA unresponsiveness of lymphocytes of babies with congenital rubella. Nature 214 : 695-696, 1967.

- 103 - MONTGOMERY J.R., SOUTH Mary Ann, RAWLS W.E. and al.
Viral inhibition of lymphocyte response to PHA.
Science 157 : 1068-1070, 1967.
- 104 - HÖLM G., PERLMAN P., JOHANSSON B.
Impaired PHA-induced cytotoxicity in vitro of lymphocytes
from patients with Hodgkin's disease or chronic lymphatic
leukemia.
Clin. Exp. Immunol. 2 : 351-360, 1967.
- 105 - MICHELS R.H.
Immunologic aspects of congenital rubella.
Pediatrics 43 : 339-350, 1969.
- 106 - MICHAELS R.H.,
Suppression of antibody response in congenital rubella.
The journal of Pediatrics, 80 : 583-588, 1972.
- 107 - SIMONS M.J., FITZGERALD M.G.
Rubella virus and human lymphocytes in culture.
Lancet 2 : 937-940, 1968.
- 108 - BARON S., CATHALA F., LEVY H.E.
Le problème de l'interféron.
Rev. Prat. 23 : 5311-5320, 1973.
- 109 - DESMYTER J., RAWLS W.E., MELNICK J.L. and al.
Interferon in congenital rubella response to live attenuated
measles vaccine.
J. Immunol. 99 : 771-777, 1967.
- 110 - SIEGEL M., FUERST H.T., PERESS Nancy S.
Foetal mortality in maternal rubella.
Amer. J. Obst. and Gynec. 96 : 247-253, 1966.

- 111 - SIEGEL M., FUERST H.T., GUINEE V.F.
Rubella epidemicity and embryopathy.
Amer. J. Dis. Child. 121 : 469-473, 1971.
- 112 - MENSER Margaret A., HARLEY J.D., HERZBERG R. and al.
Persistence of virus in lens for three years after prenatal
rubella.
Lancet 2 : 387-388, 1967.
- 113 - COOPER L.Z., ZIRING P.R., OCKERSE A.B. and al.
Rubella. Clinical manifestations and management.
Amer. J. Dis. Child. 118 : 18-29, 1969.
- 114 - PECKHAM Catherine S.
Clinical and laboratory study of children exposed in utero to
maternal rubella.
Arch. Dis. Child. 47 : 571-577, 1972.
- 115 - GUMPEL S.M., HAYES K., DUDGEON J.A.
Congenital perceptive deafness : role of intra-uterine rubella
Brit. Med. J. 2 : 300-304, 1971.
- 116 - KORONES S.B.
Aspects cliniques de la rubéole congénitale.
Revue de Médecine, n° 22, pp 1387-1392, 31.5.1971.
- 117 - DESMOND Murdina
L'atteinte du système nerveux central au cours de la rubéole
congénitale.
Revue de Médecine, n° 22, pp 1401-1408, 1971.
- 118 - RAWLS W.E., PHILLIPS C.A., MELNICK J.L. and al.
Persistent virus infection in congenital rubella.
Arch. Ophtal. 77 : 430-433, 1967.
- 119 - DESMOND Murdina M., MONTGOMERY J.R., MELNICK J.L. and al.
Congenital rubella encephalitis.
Amer. J. Dis. Child. 118 : 30-31, 1969.

- 120 - SHIFF G.M.
Studies on congenital rubella.
Amer. J. Dis. Child. 110 : 441-443, 1965
- 121 - MENSER Margaret A., DODS L., HARLEY J.D.
Twenty-five-year follow-up of congenital rubella.
Lancet 2 : 1347-1350, 1967.
- 122 - COOPER L.Z., KRUGMAN S.
Diagnosis and management. Congenital rubella.
Pediatrics 37 : 335-338, 1966.
- 123 - LINDQUIST J.M., PLOTKIN S.A., SCHAW L. and al.
Congenital rubella syndrome as a systemic infection. Studies
of affected infants born in Philadelphia (USA).
Brit. Med. J. : 1401-1406, 1965.
- 124 - MAC-CRACKEN G.H., HARDY Janet B., CHEN T.C. and al.
Serum immunoglobulin levels in newborn infants. II : Survey
of cord and follow up sera from 123 infants with congenital
rubella. Pediatrics, 74 : 383-392, n° 3, 1969.
- 125 - COOPER L.Z., FLORMAN A.L., ZIRING P.R. and al.
Loss of rubella hemagglutination inhibition antibody in con-
genital rubella.
Amer. J. Dis. Child. 122 : 397-403, 1971.
- 126 - VESIKARI T., VAHERI A., PETTAY O. and al.
Congenital rubella : immune response of the neonate and diag-
nosis by demonstration of specific IgM antibodies.
Pediatrics, 75 : 658-664, 1969.
- 127 - CHANG T.W.
Recurrent viral infection (reinfection).
N. Eng. J. Med. 284 : 765-773, 1971.

- 128 - HORSTMANN Dorothy M., PAJOT T.G., LIEBHABER H.,
Epidemiology of rubella. Subclinical infection and occurrence
of reinfection.
Amer. J. Dis. Child. 118 : 133-136, 1969.
- 129 - PARKMAN P.D.
in discussion, International conference on rubella immunization.
Amer. J. Dis. Child. 118 : 154, 1969.
- 130 - SCHIFF G.M., DONATH R., ROTTE T.
Experimental rubella studies.
Amer. J. Dis. Child. 118 : 269-274, 1969.
- 131 - CHANG T-W, DesROSIERS Suzanne, WEINSTEIN L.,
Clinical and serologic studies of an outbreak of rubella in a
vaccinated population.
N. Eng. J. Med. 283 : 246-248, 1970.
- 132 - ABRUTYN E., HERRMANN K.L., KARCHMER A.W. and al.
Rubella vaccine comparative study. Nine-month follow-up and
serologic response to natural challenge.
Amer. J. Dis. Child. 120 : 129-133, 1970
- 133 - WILKINS Jeanette, LEEDOM J.M., PORTNOY B. and al.
Reinfection with rubella virus despite live vaccine induced
immunity.
Amer. J. Dis. Child. 118 : 275-294, 1969.
- 134 - DAVIS J.W., LARSON H.E., SIMSARIAN J.P. and al.
A study of rubella immunity and resistance to infection.
JAMA 215 : 600-608, 1971.
- 135 - BOUE A.
Réinfections rubéoliques.
Presse Médicale 79 : 1591 - 1594, 1971.

- 136 - BOUE A., NICOLAS A., MONTAGNON B.
Reinfection with rubella in pregnant women.
Lancet, 1 : 1251-1253, 19.6.1971.
- 137 - BANATVALA J.E., BEST Jennifer M., WALLER D.
Epstein-Barr virus specific IgM in infectious mononucleosis,
Burkitt lymphoma and nasopharyngeal carcinoma.
Lancet, 1 : 1205-1207, 1972.
- 138 - WATSON G.I.
Serological studies on second attacks of measles and rubella.
Lancet, 1 : 80-81, 9.1.1965.
- 139 - HAUKENES G., HARAM K.O.
Clinical rubella after reinfection.
N. Eng. J. Med. 287 : 1204, 1972.
- 140 - WILKINS Jeanette, LEEDOM J.M., SALVATORE Margaret A. and al.
Clinical rubella with arthritis resulting from reinfection.
Annals of internal medicine, 77 : 930-932, 1972.
- 141 - STRANEGARD ö, HOLM S.E., HERMODSSON S. and al.
Case of apparent reinfection with rubella.
Lancet, 1 : 240-241, 31.1.1970.
- 142 - NORTHROP R.L., GARDNER W.M., GEITTMAN W.F.,
Rubella reinfection during early pregnancy. A case report.
Obstetrics and Gynecology 39 : 524-526, 1972.
- 143 - HAUKENES G., HARAM K., SOLBERG C.O.
Rubella reinfection and the foetus.
Lancet, 1 : 1313, 9.6.1973.
- 144 - BANATVALA J.E., BEST Jennifer M.
Rubella reinfections.
Lancet 1 : 1452, 23.6.1973.

- 145 - TRAVERS H.
Rubella reinfection.
Annals of internal medicine, 78 : 620, 1973.
- 146 - BOUE A.
Rubéole et grossesse. in Progrès en Obstétrique,
Editions médicales Flammarion, pp 589-597, 1970.
- 147 - SCHIFF G.M., DINE M.S.,
Transmission of rubella from newborn.
Amer. J. Dis. Child. 110 : 447-451, 1965.
- 148 - WILKINS Jeanette, LEEDOM J.M., SALVATORE Margaret A. and al.
Transmission of rubella vaccine virus from vaccinees to contacts
Calif. Med. 115 : 16-22, 1971.
- 149 - VAHERI A., VESIKARI T., OKER-BLOM N. and al.
Isolation of rubella-vaccine virus from human products of
conception and uterine cervix.
N. Eng. J. Med. 286 : 1071-1074, 1972.
- 150 - FURUKAWA T., MIYATA T., KONDO K. and al.
Clinical trials of RA 27/3 (Wistar) rubella vaccine in Japan.
Amer. J. Dis. Child. 118 : 262-263, 1969.
- 151 - LARSON H.E., PARKMAN P.D., DAVIS W.J. and al.
Inadvertent rubella virus vaccination during pregnancy.
N. Eng. J. Med. 284 : 870-873, 1971.
- 152 - BOLOGNESE R.J., CORSON S.L., SEVER J.L. and al.
Rubella vaccination during pregnancy.
Amer. J. Obst. and Gynec. 112 : 903-907, 1972.
- 153 - WYLL S.A., HERRMANN K.L.
Inadvertent rubella vaccination of pregnant women. Foetal
risk in 215 cases.
JAMA 225 : 1472-1476, 1973.

- 154 - CHIN J., EBBIN A.J., WILSON Miriam G. and al.
Avoidance of rubella immunization of women during or shortly
before pregnancy.
JAMA 215 : 632-636, 1971.
- 155 - BOUE A., PAPIERNICK-BERCKHAUER E., LEVY-THIERRY Sophie,
Attenuated rubella virus vaccine in women. Clinicals trials
during the post-partum period.
Amer. J. Dis. Child. 118 : 230-233, 1969.
- 156 - VILLAREJOS V.M., ARGUEDAS J.A., HERNANDEZ G.C. and al.
Clinical laboratory evaluation of rubella virus vaccine given
to post-partum women without pregnancy preventive.
Obstetrics and Gynecology, 42 : 689-695, n° 5, 1973.
- 157 - PITT D.B.
Congenital malformations and maternal rubella.
Med. J. Aust. 1 : 233-239, 1957.
- 158 - COCKBURN W.C.
World aspects of the epidemiology of rubella.
Amer. J. Dis. Child. 118 : 112-122, 1969.
- 159 - SEVER J.L., HARDY Janet B., NELSON K.B. and al.
Rubella in the collaborative perinatal research study. II :
Clinical and laboratory findings in children through 3 years
of age.
Amer. J. Dis. Child. 118 : 123-132, 1969.
- 160 - SEVER J.L.
Evaluation du pronostic foetal chez la femme atteinte de
rubéole pendant la grossesse.
Revue de Médecine, n° 22, pp 1393-1400, 31.5.1971.
- 161 - HARDY Janet B, MAC CRACKEN G.H., GILKESON Mary Ruth and al.
Adverse foetal outcome following maternal rubella after the
first trimester of pregnancy.
JAMA 207 : 2414-2420, 1969.

- 162 - SEVER J.L., BRODY J.A., SCHIFF G.M. and al.
Rubella epidemic on St Paul Island in the Pribilofs, 1963
JAMA 191 : 624-626, 1965.
- 163 - AVERY G.B., MONIF G.G., SEVER J.L. and al.
Rubella syndrom after inapparent maternal illness.
Amer. J. Dis. Child. 110 : 444-446, 1965.
- 164 - SCHIFF G.M.
Titered Lots of immune globulin (Ig). Efficacy in the prevention of rubella.
Amer. J. Dis. Child. 118 : 322-327, 1969.
- 165 - AUROUSSEAU Y., MAURIN J., DARBOIS Y.
Séro-protection de la rubéole. Etudes des anticorps sériques après injection d'immunoglobulines.
Nouv. Presse Med. 2 : 1885-1887, 1973.
- 166 - MAC CALLIN P.F., FUCCILO D.A., LEY Anita C. and al.
Gammaglobulin as prophylaxis against rubella-induced congenital anomalies.
Obstetrics and gynecology, 39 : 185-189, 1972.
- 167 - HERVET E.
Avortement clandestin - avortement légal.
Rev. Prat. 24 : 637-641, 1974.
- 168 - PLOTKIN S.A.
Le vaccin atténué cultivé sur cellules diploïdes humaines.
Utilisation et résultats.
Revue de Médecine, n° 22, pp 1409-1414, 31.5.1971.

"Par délibération de son Conseil, en date du 10 Novembre 1972, l'Université n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ou mémoires. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs".

VU, le Président de Thèse :

VU, le Doyen de la Faculté :

VU et permis d'imprimer :

Le Président de l'Université de CAEN

